

Zur antibakteriellen Wirkung von HealOzone™

Eine In-vitro-Studie

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von

Daniela Vogt

geboren am 23. November 1976 in Quedlinburg

Jena 2007

Erster Gutachter:

Zweiter Gutachter:

Dritter Gutachter:

Tag der öffentlichen Verteidigung:

8 Literaturverzeichnis

1. Abu-Naba`a L, Al Shorman H, Stevenson M, Lynch E. 2003. Ozone treatment of pit and fissure caries: 6-months results. *J Dent Res*, 82.
2. Abu-Naba`a L, Al Shorman H, Holmes J, Petersson LG, Tagami J, Lynch E. 2004a. Evidenced-based research into ozone treatment in dentistry: an overview. In: Lynch E, Hrsg. *Ozone: the revolution in dentistry*. London: Quintessence Verlag, 73-115.
3. Abu-Naba`a L, Al Shorman H, Lynch E. 2004b. Use of fissure sealants over ozone treated occlusal surfaces. In: Lynch E, Hrsg. *Ozone: the revolution in dentistry*. London: Quintessence Verlag, 143-154.
4. Abu-Naba`a L, Lynch E. 2004. Clinical management of pit and fissure caries using ozone and some research results. In: Lynch E, Hrsg. *Ozone: the revolution in dentistry*. London: Quintessence Verlag, 125-142.
5. Andree A, Finke C, Kneist S. 2004. Zahnflächenspezifische Arealbeimpfung handelsüblicher Chair-side-Tests zum Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen. *Prophylaxe Impuls*, 8:172-178.
6. Bär K. 1935. Die Behandlung der Pulpagangrän und Zahnwurzelgranulome mit Ozon in Kombination mit der Walkhoffschen Vorbehandlung. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 45:669- 705.
7. Baysan A, Whiley RA, Lynch E. 2000. Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries Res*, 34:498-501.
8. Baysan A, Lynch E. 2001. Management of root caries using a novel ozone delivery system in-vivo. *J Dent Res*, 80:37.
9. Baysan A. 2002. Management of primary root caries using ozone therapies. PhD thesis. Belfast: Queens University.
10. Baysan A, Lynch E. 2004a. Clinical management of root caries using ozone. In: Lynch E, Hrsg. *Ozone: the revolution in dentistry*. London: Quintessence Verlag, 173-180.
11. Baysan A, Lynch E. 2004b. Use of sealants over ozone remineralised root caries. In: Lynch E, Hrsg. *Ozone: the revolution in dentistry*. London: Quintessence Verlag, 181-186.
12. Baysan A, Lynch E. 2006. The use of ozone in dentistry and medicine. Part 2. Ozone and root caries. *Prim Dent Care*, 13:37-41.

13. Baysan A, Beighton D. 2006. Assessment of the ozone-mediated killing of bacteria in infected dentine associated with non-cavitated occlusal carious lesions. *Caries Res*, 40:355.
14. Beck EG, Schmidt P. 1996. Hygiene – Umweltmedizin. Stuttgart: Enke-Verlag.
15. Bjorndal L, Larsen T, Thylstrup A. 1997. A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. *Caries Res*, 31:411-417.
16. Bocci V, Paulesu L. 1990. Studies on the biological effects of ozone: 1. Induction of interferon γ on human leucocytes. *Haematologica*, 75:510-515.
17. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Di Stefano A. 1993a. Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res*, 12:121-126.
18. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Rossi R, Cardaioli E, DiSimplicio P. 1993b. Studies on the biological effects of ozone: 4. Cytokine production and glutathione levels in human erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents*, 7:133-138.
19. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L. 1994a. Studies on the biological effects of ozone: 5. Evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autohaemotherapy. *Biotherapy*, 7:83-90.
20. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Silvestri S. 1994b. Studies on the biological effects of ozone: 6. Production of transforming growth factor 1 by human blood after ozone treatment. *J Biol Regul Homeost Agents*, 8:108-112.
21. Bocci V. 1995. Immunologische Aspekte. In: Beck EG, Viehbahn-Hänsler R, Hrsg. *Ozon-Handbuch: Grundlagen – Prävention - Therapie*. Landsberg: EcoMed.
22. Bocci V. 1996. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? *Med Hypotheses*, 46:150-154.
23. Botzenhardt K, Herbold K. 1988. Abtötung von Hepatitis-A-Virus im Wasser durch Ozon. *Z Gesamte Hyg*, 34:508-510.
24. Brazzelli M, McKenzie L, Fielding S, Fraser C, Clarkson J, Kilonzo M, Waugh N. 2006. Systematic review of the effectiveness and cost effectiveness of HealOzone for the treatment of occlusal pit/fissure caries and root caries. *Health Technol Assess*, 10:iii-iv, ix-80.
25. Bringmann G. 1954. Die Wirkung von Ozon auf Organismen des Trinkwassers. *Z Hyg Infektionskr*, 139:333-337.

26. Bünning G, Hempel D. 1996. Vital-Fluorochromization of microorganisms using 3',6'-Diacetylfluorescein to determine damages of cell membranes and loss of metabolic activity by ozonation. *Ozone Sci and Eng*, 18:173-181.
27. Brunner UV. 1937a. Gedanken zur Ozontherapie. *Zahnärztl Rundsch*, 46:15-19.
28. Brunner UV. 1937b. Das Ozonproblem in der Zahnheilkunde. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 47:840-855.
29. Carpendale MT, Freeberg JK. 1991. Ozone inactivates HIV at non cytotoxic concentrations. *Antiviral Res*, 16:281-292.
30. Carson JL, Collier AM, Henshaw NG, Smith CA, Hu SC. 1985. Response of human ciliated respiratory epithelium to brief in vivo ozone exposure: an ultrastructural study. *Environ Res*, 37:212.
31. Chang L-Y, Huang Y, Stockstill BL, Graham JA, Grose EC, Menache MG, Miller FJ, Costa DL, Crapo JD. 1992. Epithelial injury and interstitial fibrosis in the proximal alveolar regions of rats chronically exposed to a simulated pattern of urban ambient ozone. *Toxicol Appl Pharmacol*, 115:241-252.
32. Crapo JD. 1989. Species and individual variations in sensitivity to lung injury. In: Utell MJ, Frank R. (Eds.) *Susceptibility to inhaled pollutants*. Philadelphia: ASTM, 23.
33. Dähnhardt JE, Lussi A. 2004. Rund ums Ozon in der Zahnmedizin. *Zahnärztl Mitt*, 7:40-47.
34. Dähnhardt JE, Jaeggi T, Lussi A. 2006. Treating open carious lesions in anxious children with ozone. A prospective controlled clinical study. *Am J Dent*, 19:267-270.
35. Devlin RB, McDonnell WF, Mann R, Becker S, House DE, Schreinemachers D, Koren HS. 1991. Exposure of humans to ambient levels of ozone for 6,6 hours causes cellular and biochemical changes in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 4:72-81.
36. Driscoll KE, Vollmuth TA, Schlesinger RB. 1987. Acute and subchronic ozone inhalation in the rabbit: response of alveolar macrophages. *J Toxicol Environ Health*, 21:27.
37. Driscoll KE, Schlesinger RB. 1988. Alveolar macrophage-stimulated neutrophil and monocyte migration: effects of in vitro ozone exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*, 93:312.
38. Dunlop WF. 1929. Alveolarpyorrhoe. *Korrespbl f Zahnärzte*, 10:428-432.
39. Edwardsson, S. 1974. Bacteriological studies on deep areas of carious dentine. *Odontol Revy* 25, Suppl. 32:1-143.

-
40. Environmental Protection Agency. 1986. Air quality criteria for ozone and other photochemical oxidants. EPA – 600/8-84-020aF. Vol.1-5, Washington.
 41. Europäische Gemeinschaften. 1992. Richtlinie 92/72/EWG des Rates vom 21. September 1992 über die Luftverschmutzung durch Ozon. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften. Nr. L 297/2, Luxemburg.
 42. Estrela C, Estrela CRA, Decurcio DA, Hollanda ACB, Silva JA. 2007. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. *Int Endod J*, 40:85-93.
 43. Farman JC, Gardiner BG, Shanklin JD. 1985. Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO_x/NO_x interaction. *Nature*, 315:207-210.
 44. Featherstone JD, Glena R, Shariati M, Shields CP. 1990. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res*, 69:620-636.
 45. Filippi A, Tilkes F, Beck EG, Kirschner H. 1991. Wasserdesinfektion zahnärztlicher Behandlungseinheiten durch Ozon. *Dtsch Zahnärztl Z*, 46:485-487.
 46. Filippi A. 1995. Bewährung der Wasserdesinfektion zahnärztlicher Behandlungseinheiten durch Ozon. *Dtsch Zahnärztl Z*, 50:708-710.
 47. Filippi A. 1998. Ozone in the room air when using water ozonating equipment in the dental treatment area. *Ozone Sci Eng*, 20:251-257.
 48. Filippi A. 1999. Klinisch-experimentelle Untersuchungen zur Wundheilung von Oralgeweben unter Einfluß von Ozonwasser [Med Habil] Gießen: Justus-Liebig-Universität.
 49. Filippi A. 2001. Der Einfluss von ozoniertem Wasser auf die epitheliale Wundheilung. *Dtsch Zahnärztl Z*, 56:104-108.
 50. Fisch EA. 1936a. Über Ozonbehandlung in der Zahnheilkunde. *Zahnärztl Rundsch*, 45:952-958.
 51. Fisch EA. 1936b. Über Anwendung von Ozon in der Stomatologie, als wirksames Mittel einer neuzeitlichen Therapie. *Dtsch Zahnärztl Wochenschr*, 40/ 41:943-946/ 971-974.
 52. Fisch EA. 1948. Ergebnisse der Behandlung von vitalem Zahngewebe. *Dtsch Zahnärztl Z*, 7:1165-1169.
 53. Fischer P, Thofern E, Botzenhardt K. 1978. Vergleichende Untersuchungen zur Wirksamkeit von Chlor und Ozon auf Bakterien und Sporen. *Zentralbl Bakteriol (Orig B)*, 166:399.

-
54. Fitzgerald RJ, Jordan HV, Archard HE. 1966. Dental caries in gnotobiotic rats infected with a variety lactobacillus. *Arch Oral Biol*, 11:473-476.
 55. Fitzgerald RJ, Adams BO, Davis ME. 1994. A microbiological study of recurrent dentinal caries. *Caries Res*, 28:409-415.
 56. Fonrobert E. 1916. *Das Ozon*. Stuttgart: Enke.
 57. Freemann R, Holmes J, Lynch E. 2004. Ozone: a new treatment modality for dentally anxious patients. In: Lynch E, Hrsg. *Ozone: the revolution in dentistry*. London: Quintessence Verlag, 287-294.
 58. Garfield E. 1988. Ozone layer depletion: its consequences, the causal debate, and international cooperation. In: *Current Contents* 19:3-13.
 59. Gehring W, Glutsch J, Schöniat U, Gehse M, Gloor M. 1990. Vergleichende Untersuchung über die Wirkung verschiedener Antiseptika und der Ozonbegasung auf *Ulcus-cruris*-übliche Keime. *Z Hautkr*, 65:746-750.
 60. Gehring W, Glutsch J, Schöniat U, Gehse M, Gloor M. 1992. Vergleich der antimikrobiellen Wirkung von Kaliumpermanganat allein und in Kombination mit Ozonbegasung. *Phlebol*, 21:24-26.
 61. Gonzalez-Cabezas C, Li Y, Gregory RL, Stookey GK. 1999. Distribution of three cariogenic bacteria in secondary carious lesions around amalgam restorations. *Caries Res*, 33:357-365.
 62. Häufe A, Sprockhoff H v. 1973. Ozon als Desinfektionsmittel gegen vegetative Bakterien, Bazillensporen, Pilze und Viren in Wasser. *Zentralbl Bakteriol (Orig B)*, 175:53-70.
 63. Hazucha MJ. 1987. Relationship between ozone exposure and pulmonary function changes. *J Appl Physiol*, 62:1671-1680.
 64. Hazucha MJ, Bates DV, Bromberg PA. 1989. Mechanism of action of ozone on the human lung. *J Appl Physiol*, 67:1535-1541.
 65. Heinrich R, Kneist S. 1988. Microbiological-histological controlled treatment study for evaluation of efficacy of one step and stepwise excavation of deep carious lesions. *Stomatol DDR*, 38:693-698.
 66. Heinrich R, Kneist S, Künzel W. 1991. Clinical controlled study on the treatment of deep carious lesions in deciduous molars. *Dtsch Zahnärztl Z*, 46:581-584.
 67. Heinrich-Weltzien R, Kneist S, Fischer T, Stößer L. 1998. Ist eine effektive Kariesprävention ohne Fissurenversiegelung möglich? *Quintessenz* 49:1099-1108.

-
68. Heinrich R, Künzel W, Kneist S. 1985. Entwicklung der Keimflora nach einzeitiger und schrittweiser Caries-profunda-Therapie. Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd, 73:456-463.
 69. Hems RS, Gulabivala K, Ng YL, Ready D, Spratt DA. 2005. An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J, 38:22-29.
 70. Herbold K, Flehmig B, Botzenhardt K. 1989. Comparison of ozone inactivation in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms. Appl Environ Microbiol, 55:2949-2953.
 71. Herzog M, Sader R, Deppe H, Zeilhofer HF. 1995. Klinische Aspekte zu Ursachen und Therapie der Osteoradionekrose der Kiefer. Dtsch Zahnärztl Z, 50:85-87.
 72. Hettche O, Schulz-Ehlbeck HW. 1953. Epidemiologie und Prophylaxe der Poliomyelitis im Hinblick auf die Rolle des Wassers bei der Übertragung. Arch Hyg, 137:440.
 73. Holmes J. 2003. Clinical reversal of root caries using ozone, a double-blind, randomised, controlled 18-month trial. Gerodontology, 20:106-114.
 74. Holmes J, Lynch E. 2004. Equipment available to deliver ozone in dentistry. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 57-65.
 75. Horstman DH, McDonnell W, Kehrl HR, Devlin R, Abdul-Salaam S, Ives P, Koren H. 1989. Current USEPA research concentrations (< 0,12 ppm). In: Brasser LR, Mulders WC. (Eds.) Man and his Ecosystem. Vol. 1. Amsterdam: Elsevier, 1.
 76. Huth KC, Hickel R. 2004. The role of ozone in "minimal intervention dentistry". In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 117-124.
 77. Huth KC, Paschos E, Brand K, Hickel R. 2005. Effect of ozone on non-cavitated fissure carious lesions in permanent molars. A controlled prospective clinical study. Am J Dent, 18:223-228.
 78. Johnson N. 2004. The introduction of ozone therapy into a general dental practice in wales, UK - a personal view. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 209-213.
 79. Johnson N, Holmes J, Lynch E. 2004. The implications of using ozone in general dental practice. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 67- 72.
 80. Jolivet M. 1928. De l`ozone en art dentaire. Revue dent d`electrol, III(5).
 81. Joret JC, Block JC, Hartemann P, Richard Y. 1982. Wastewater disinfection: elimination of fecal bacteria and enteric viruses by ozone. Ozone Sci Eng, 4:91.

-
82. Kehrl HR, Vincent LM, Kowalsky RJ, Horstman DH, O'Neil JJ, McCartney WH, Bromberg PA. 1987. Ozone exposure increases respiratory epithelial permeability in humans. *Am Rev Respir Dis*, 135:1124.
 83. Kehrl HR, Horstman DH, O'Neil JJ, Vincent LM, Kowalsky RJ, McCartney WH, Bromberg PA. 1989. Ozone induced changes in respiratory epithelial permeability. In: Schneider T, Lee SD, Wolters GJR, Grant LD. (Eds.) *Atmospheric ozone research and its policy implications*. Amsterdam: Elsevier, 343.
 84. Kidd EA, Joyston-Bechal S, Beighton D. 1995. Marginal ditching and staining as a predictor of secondary caries around amalgam restorations: a clinical and microbiological study. *J Dent Res*, 74:1206-1211.
 85. Kidd EA, Beighton D. 1996. Prediction of secondary caries around tooth-coloured restorations: a clinical and microbiological study. *J Dent Res*, 75:1942-1946.
 86. Kidd EA, Fejerskov O. 2004. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*, 83:35-38.
 87. Kidd EA. 2004. How clean must a cavity be before restoration? *Caries Res*, 38:305-313.
 88. Kißkalt K. 1912. Versuche über Desodorierung, *Z Hyg Infektionskr*, 71:273-295.
 89. Kneist S, Heinrich R. 1988. Influence on microorganisms in cavity floor of calxyl. *Stomatol DDR*, 38:490-492.
 90. Kneist S, Heinrich R, Künzel W. 1988. The presence of Lactobacilli in carious dentin. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd*, 76:123-127.
 91. Kneist S, Heinrich R, Künzel W. 1989. Microbial colonization of carious progression stages in the dentin of human teeth-a controlled therapeutic study. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg*, 270:385-395.
 92. Kneist S, Heinrich R, Künzel W. 1990. The microbial colonization of the dentin close to the pulp in the permanent teeth following deep caries therapy. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd*, 78:695-698.
 93. Koren HS, Devlin RB, Graham DE, Mann R, McGee MP, Horstman DH, Kozumbo WJ, Becker S, House DE, McDonnell WF. 1989. Ozone-induced inflammation in the lower airways of human subjects. *Am Rev Respir Dis*, 139:407-415.
 94. Koren HS, Devlin RB, Becker S, Perez R, McDonnell WF. 1991. Time-dependent changes of markers associated with inflammation in the lungs of humans exposed to ambient levels of ozone. *Toxicol Pathol*, 19:406-411.
 95. Leger-Dorez K. 1908. Alveolarpyorrhoe. Ref Dudley. *Dtsch Zahnärztl Wochenschr*, 11:441.

-
96. Lehne R. 1939. Über Ozonbehandlung. Dtsch Zahnärztl Wochenschr, 42:549-550.
 97. Lemmerich J. 1990. Die Entdeckung des Ozons und die ersten 100 Jahre der Ozonforschung. Berlin: SIGMA, Signatur: 2205-316.
 98. Lieben S. 1925. Behandlung schlecht ernährter Gewebe mit Sauerstoff. Med Klin, 21:1958-1959.
 99. Liebig J, Schoenbein CF. 1900. Briefwechsel 1853-1868. Hrsg. Kahlbaum GWA. Leipzig Barth: 10.
 100. Liou PJ, Dyba RV. 1989. Tropospheric ozone: The dynamics of human exposure. Toxicol Ind Health, 5:493-504.
 101. Loesche WJ. 1986. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol Rev, 50:353-380.
 102. Lussi A, Schaffner M. 2002. Diagnose und Therapie der Karies. Schweiz Med Forum, 8:166-170.
 103. Lussi A, Francescut P, Schaffner M. 2003. Neue und konventionelle Methoden zur Diagnose der Fissurenkaries. Quintessenz, 54:1037-1046.
 104. Lussi A, Francescut P. 2004. Use of the diagnodent in detecting and monitoring carious lesions and residual caries for ozone treatment. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 49-56.
 105. Lynch E. 2003. Paradigmenwechsel nicht nur in der Kariestherapie (Vortrag). In: Dtsch Zahnärztl Wochenschr 22/ 03, Kongreß in Frankfurt.
 106. Lynch E. 2004. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag.
 107. Mahnel H. 1988. Inaktivierung von Viren in Wasser und Desinfektion. Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg, 78:121-135.
 108. Masschelein W. 1995. Trinkwasser. In: Beck EG, Viehbach-Hänsler R, Hrsg. Ozon-Handbuch: Grundlagen-Prävention-Therapie. Landsberg: EcoMed.
 109. Maupome G, Shulman JD, Clark DC, Levy SM, Berkowitz J. 2001. Tooth-surface progression and reversal changes in fluoridated and no-longer-fluoridated communities over a 3-year period. Caries Res, 35:95-105.
 110. Megighian GD. 2004. The clinical experience in a private general dental practice in Italy. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 243-256.
 111. Meyer H. 1938. Über Ozon und seine therapeutische Verwendung in der Zahnheilkunde. Dtsch Zahnärztl Wochenschr, 41:367-371.

-
112. Michalek SM, Hirasawa M, Kiyono H, Ochiai K, Mc Ghee JR. 1981. Oral ecology and virulence of *Lactobacillus casei* and *Streptococcus mutans* in gnotobiotic rats. *Infect Immun*, 33:690-696.
 113. Miller FJ, McDonnell WF, Gerrity TR. 1989. Exercise and regional dosimetry: an overview. In: Utell MJ, Frank R. (Eds.) *Susceptibility to inhaled pollutants*. Philadelphia: ASTM: 91.
 114. Morrison R, Robert T, Robert NB. 1986. *Lehrbuch der organischen Chemie*. 3. Aufl. Weinheim u.a.: Verl Chemie: 436.
 115. Morrison R, Lynch E. 2003. Remineralization of occlusal pit and fissure caries after using ozone. *J Dent Res*, 82.
 116. Mosbach M, Polzer G, Lind I, Krüger E, Seidel A. 1994. Untersuchungen über Kombinationswirkungen von Gasen und Stäuben auf Alveolarmakrophagen an einem realitätsnahen in-vitro-Modell. In: Horsch F, Friebe P, Seidel A, Hrsg. *Proceedings 3. Statuskolloquium des Projektes Umwelt und Gesundheit im Kernforschungszentrum Karlsruhe*: 175.
 117. Müller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. 2007. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci*, 115:77-80.
 118. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. 2004. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod*, 30:778-781.
 119. Nagano T. 1960. Relation between the form and pit and fissure and the primary lesion of caries. *Shikwa Gakuto*, 60:80-90.
 120. Noack M. 2005. Moderne Techniken zur Behandlung des infizierten Dentins. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 115:382-384.
 121. Noetzel J, Nonhoff J, Wagner J, Baraliakos S, Neumann K, Kielbassa AM. 2005. In-vitro-Studie zur Effektivität der Wurzelkanalinfektion mit Ozon und Kalziumhydroxid. *Dtsch Zahnärztl Z*, 391.
 122. Nyvad B. 2003. Clinical caries diagnostic criteria-consequences for caries prevention and control. *Oralprophylaxe*, 2:64-65.
 123. Ohlmüller W. 1893. Über die Einwirkung des Ozons auf Bakterien. In: Kaiserliches Gesundheitsamt Hrsg. *Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt*. Berlin: Springer-Verlag: 229.
 124. Ohlmüller W. 1902. Wasserreinigung mit Ozon. *Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt*, 18:417.

125. Orland FJ, Blayney JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, Gordon HA, Luckey TD. 1954. Use of the germfree animal technique in the study of experimental caries. *J Dent Res*, 33:147-174.
126. Orland FJ, Blayney JR, Harison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Ervin RF, Gordon HA, Wagner M. 1955. Experimental caries in germ free rats inoculated with enterococci. *J Am Dent Assoc*, 50:259-273.
127. Overdiek HF, Honrath L. 1951. Ozone in the treatment of root canal gangrene. *Zahnärztl Welt*, 6:373-376.
128. Paulesu L, Luzzi E, Bocci V. 1991. Studies on the biological effects of ozone: 2. Induction of tumor necrosis factor (TNF- α) on human leucocytes. *Lymphokine Cytokine Res*, 10:409-412.
129. Pötsch, WR., Fischer A., Müller H. 1988. Lexikon bedeutender Chemiker. VEB Bibliogr. Institut, Leipzig, 385.
130. Polzer G, Mosbach M, Lind I, Ragunath B, Seidel A. 1993. Untersuchungen über Kombinationswirkungen von Gasen und Stäuben auf Alveolarmakrophagen an einem realitätsnahem in-vitro-Modell. In: Horsch F, Friebel P, Seidel A, Hrsg. Proceedings 2. Statuskolloquium des Projektes Umwelt und Gesundheit im Kernforschungszentrum Karlsruhe:109.
131. Prucha J. 1986. Trinkwasser. In: Beck EG, Schmidt P, Hrsg. Hygiene in Krankenhaus und Praxis. Berlin: Springer-Verlag, 430.
132. Rebel, HH. 1947. Konservierende Zahnheilkunde. Carl Hanser Verlag, 479-482.
133. Reuter K. 1939. Einiges über die Ozonbehandlung unter besonderer Berücksichtigung des neuen Ozongerätes „Fulgozon“. *Dtsch Zahnärztl Wochenschr*, 42:888-890.
134. Rice RG, Robson CM, Miller GW, Hill AG. 1981. Uses of ozone in drinking water treatment. *J Am Water Works Assoc*, 73:44-57.
135. Rickard GD, Richardson R, Johnson T, McColl D, Hooper L. 2004. Ozone therapy for the treatment of dental caries. *Aust Dent J*, 49:204.
136. Roempp CD. 1995. Chemie Lexikon-Version 1.0, Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag.
137. Roy D, Wong PK, Engelbrecht RS, Chian ES. 1981. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. *Appl Environ Microbiol*, 41:718-723.
138. Sader R, Zeilhofer HF, Deppe H. 1996. Ozontherapie chronischer Wundheilungsstörungen im bestrahlten Kiefer. *Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir*, 20:60-64.

-
139. Sandhaus S. 1968. L`hydrozotomie: methode therapeutique remettant en honneur l`ozone. Schweiz Monatsschr Zahnmed, 78:620-623.
 140. Sandhaus S. 1969. Die Ozonbehandlung in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. Zahnärztl Prax, 20:23-24.
 141. Santoro F, Biase M, Ruffoni D, Batia S, Ni Ceglie N, Spadari F. 2005. Die Ozontherapie in der Stomatologie. Dent Cadmos, 9.
 142. Schoenbein CF. 1840. Recherches sur la nature de le deur qui se manifeste dans certaines actions chimiques. Comptes Renduz Acad Sci, 10:706-710.
 143. Seidel HJ. 1996. Umweltmedizin. Stuttgart: Thieme-Verlag.
 144. Shiratori R, Kaneko Y, Kobayashi Y, Yamamoto Y, Sano H, Ishizu Y, Yamamoto T. 1993. Can ozone administration activate the tissue metabolism – a study on brain metabolism during hypoxic hypoxia. Masui, 42:2.
 145. Shu M, Wong L, Miller JH, Sissons CH. 2000. Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model system. Arch Oral Biol, 45:27-40.
 146. Steier L, Steier, G. 2004. Ozone application in root canal disinfection. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 275-285.
 147. Steiner M, Menghini G, Curilovic Z, Marthaler T. 1994. Der Kariesbefall der Schüler der Stadt Zürich im Zeitraum 1970-1993. Schweiz Monatsschr Zahnmed, 104:1210-1218.
 148. Stockleben C. 2004. HealOzone – a revolution in dentistry. In: Lynch E, Hrsg. Ozone: the revolution in dentistry. London: Quintessence Verlag, 215-241.
 149. Stoll R, Venne L, Mutter R, Stachniss V. 2004. Zur Desinfektionswirkung von Ozongas im infizierten Wurzelkanal (In-vitro-Studie). Endod J, 4:41.
 150. Stürzenbaum N. 2007. Sanierung von Kleinkindern mit frühkindlicher Karies (ECC) in Allgemeinanästhesie-Eine retrospektive Analyse. [Dissertation] Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
 151. Suchkow BP. 1967. Decontamination of drinking water containing agents which can cause intestinal diseases and enteroviruses by ozonisation. J Am Water Works Assoc, 59:50-53.
 152. Thraenhart C, Kuwert E. 1975. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Chlor und Ozon auf Polioviren bei der Trinkwasseraufbereitung der Stadt Essen. Zentralbl Bakteriол (Orig B), 160:305-309.

-
153. Torraca L. 1924. L'azione delle insufflazioni sottocutanee di ossigeno sulla cicatrizzazione delle ferite. Ref. Strauß, Centrorg f d ges Chir, 26:389.
 154. Tracksdorf H. 1956. Behandlungsmöglichkeit mit Ozon in der Zahnheilkunde. Zahnärztl Welt, 16:503-504.
 155. Turcic J, Hancevic J, Antoljak T, Zic R, Alfircvic I. 1995. Effects of ozone on how well split-thickness skin grafts according to Thiersch take in war wounds. Results of prospective study. Langenbecks Arch Chir, 380:144.
 156. Tylicki L, Niewglowski T, Biedunkiewicz B, Burakowski S, Rutkowski B. 2001. Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialysed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs-pilot study. Int J Artif Organs, 24:79-82.
 157. Umweltbundesamt. 1983. Luftqualitätskriterien für photochemische Oxidantien. UBA-Berichte 5/83. Berlin: Schmidt-Verlag.
 158. Verein Deutscher Ingenieure. 1987. VDI-Handbuch. Reinhaltung der Luft, Bd. 1. Düsseldorf: VDI-Verlag.
 159. Viebahn-Hänsler R. 1995a. Einfluß auf den Erythrozytenstoffwechsel. In: Beck EG, Viebahn-Hänsler R, Hrsg. Ozon-Handbuch: Grundlagen-Prävention-Therapie. Landsberg: EcoMed.
 160. Viebahn-Hänsler R. 1995b. Reaktionsmechanismen des medizinischen Ozons. In: Beck EG, Viebahn-Hänsler R, Hrsg. Ozon-Handbuch: Grundlagen-Prävention-Therapie. Landsberg: EcoMed.
 161. Wagner HM. 1995. Ozon-Smog: Ursache, Exposition und Wirkung. In: Beck EG, Viebahn-Hänsler R, Hrsg. Ozon-Handbuch: Grundlagen-Prävention-Therapie. Landsberg: EcoMed.
 162. Wallhäußer KH. 1995. Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung. Stuttgart: Thieme-Verlag.
 163. Weerheijm KL, Groen HJ. 1999. The residual caries dilemma. Community Dent Oral Epidemiol, 27:436-441.
 164. Wege K. 1988. Ozonbelastungen am Meteorologischen Observatorium Hohenpeißenberg in der Troposphäre. GSF-Bericht, 17:95-102.
 165. Weinmann J. 1925. Die Desinfektionskraft der gasförmigen Bestandteile einiger in der konservierenden Zahnheilkunde verwendeter Antiseptika. Z Stomatol, 23:439-443.
 166. Weiß F. 2007. Zur Effizienz von HealOzone™ zur Keimreduktion im Wurzelkanal. Eine In-vitro-Studie. [Dissertation] Jena: Friedrich-Schiller-Universität.

-
167. Wells KH, Latino J, Gavalchin J, Poiesz BJ. 1991. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by ozone in vitro. *Blood*, 78:1882-1890.
 168. Wicht MJ, Haak R, Kneist S, Noack MJ. 2006. Ozone gas significantly reduces microorganisms within carious dentine sampled from deciduous molars. *Caries Res*, 40:354-355.
 169. Wolff A. 1920. Ozon in der Wundbehandlung. *Berliner klin Wochenschr*, 57:785-786.
 170. World Health Organization. 1994. Update and revision of the air quality guidelines for Europe. WHO Regional Office Copenhagen.

9 Anhang

Tabelle 1: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalfächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 30 Sekunden Placebo-, HealOzoneTM- und PZR-HealOzoneTM-Behandlung

| Untersuchung | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| PZR | 1.8511 ± 1.4523 p = 0,004 s | 0.4811 ± 0.7132 |
| Placebo | 3.1300 ± 0.9590 p = 0,670 ns | 3.3434 ± 1.4378 |
| HealOzone | 2.3420 ± 1.4244 p = 0,562 ns | 2.5733 ± 1.6247 |
| PZR-HealOzoneTM | 1.7256 ± 1.9869 p = 0,716 ns | 1.4449 ± 1.3103 |

Tabelle 2: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalfächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 60 Sekunden Placebo-, HealOzoneTM- und PZR-HealOzoneTM-Behandlung

| Untersuchung | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|-------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| PZR | 1.8511 ± 1.4523 p = 0,004 s | 0.4811 ± 0.7132 |
| Placebo 60 | 4.7357 ± 1.1686 p = 0,079 ns | 4.1218 ± 0.7659 |
| HealOzone 60 | 2.7820 ± 1.0320 p = 0,446 ns | 2.4702 ± 1.3430 |
| PZR-HealOzone 60 | 1.5793 ± 1.5867 p = 0,336 ns | 2.0510 ± 1.4933 |

Tabelle 3: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalfächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 90 Sekunden Placebo-, HealOzoneTM- und PZR-HealOzoneTM-Behandlung

| Untersuchung | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| PZR | 1.8511 ± 1.4523 p = 0,004 | 0.4811 ± 0.7132 |
| Placebo | 3.4120 ± 0.8102 p = 0,442 | 3.7551 ± 1.1641 |
| HealOzone | 0.8257 ± 1.2242 p = 0,263 | 1.5504 ± 1.8221 |
| PZR-HealOzone | 3.7890 ± 0.8475 p = 0,000 | 2.0076 ± 1.4161 |

Tabelle 4: Keimzahlen von Mutans-Streptokokken und *Streptococcus sanguinis* vor und nach HealOzoneTM-Behandlung von 20 Sekunden in vitro

| Stamm-/ Zahnnummer | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|-----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| S. mutans NCTC 10449 | 3.3066 ± 1.4736 (n = 6) | 1.1331 ± 0.9859 (n = 6) |
| S. sobrinus OMZ 176 | 3.3066 ± 1.4736 (n = 6) | 2.6427 ± 1.0020 (n = 6) |
| S. sanguinis OMZ 9S | 3.0446 ± 1.4576 (n = 6) | 1.6467 ± 1.5038 (n = 6) |
| Gesamt | 2.6651 ± 1.4410 p-Wert = 0.048 s | 1.8075 ± 1.2892 |

Tabelle 5: Keimzahlen von Mutans-Streptokokken und Streptococcus sanguinis vor und nach HealOzoneTM-Behandlung von 40 Sekunden in vitro

| Stamm-/ Zahnnummer | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|-------------------------------|---------------------------------------|--|
| S. mutans NCTC 10449 | | |
| | 4.9142 ± 0.3773 (n = 3) | 3.5215 ± 0.7813 (n = 3) |
| S. sobrinus OMZ 176 | | |
| | 4.0970 ± 1.3988 (n = 6) | 3.2959 ± 1.3930 (n = 6) |
| S. sanguinis OMZ 9S | | |
| | 2.3485 ± 0.4533 (n = 2) | 2.4367 ± 0.6846 (n = 2) |
| Gesamt | 4.0020 ± 1.3525 | 3.2012 ± 1.1368 |
| p-Wert = 0.037 s | | |

Tabelle 6: Keimzahlen von Laktobazillen vor und nach HealOzoneTM-Behandlung von 20 Sekunden in vitro

| Stamm-/ Zahnnummer | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|----------------------------------|---------------------------------------|--|
| L. casei IMET 10692 | | |
| | 6.2032 ± 0.6246 (n = 3) | 3.9243 ± 0.4283 (n = 3) |
| L. coryniformis DSM 20001 | | |
| | 5.9254 ± 0.4987 (n = 3) | 3.9326 ± 0.9610 (n = 3) |
| L. plantarum DSM 2601 | | |
| | 4.0645 ± 1.4921 (n = 6) | 3.2073 ± 1.1942 (n = 6) |
| Gesamt | 5.0643 ± 1.4931 | 3.5679 ± 0.9956 |
| p = 0,000 s | | |

Tabelle 7: Keimzahlen von Laktobazillen vor und nach HealOzoneTM-Behandlung von 40 Sekunden in vitro

| Stamm-/ Zahnnummer | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|----------------------------------|---------------------------------------|--|
| L. casei IMET 10692 | | |
| | 5.0705 ± 1.2613 (n = 6) | 3.7430 ± 1.2123 (n = 6) |
| L. coryniformis DSM 20001 | | |
| | 1.8964 ± 1.3377 (n = 3) | 1.0707 ± 0.4816 (n = 3) |
| L. plantarum DSM 2601 | | |
| | 5.6078 ± 0.5145 (n = 6) | 4.6763 ± 1.0353 (n = 6) |
| Gesamt | 4.6506 ± 1.7355 | 3.5990 ± 1.6807 |
| p = 0,002 s | | |

Tabelle 8: Keimzahlen von Aktinomyzeten vor und nach HealOzone™-Behandlung von 20 Sekunden in vitro

| Stamm-/ Zahnnummer | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| A. naeslundii ATCC 27044 | | |
| | 3.5770 ± 2.0132 (n = 6) | 2.6563 ± 1.3833 (n = 6) |
| A. denticola NCTC 11490 | | |
| | 4.2717 ± 0.6881 (n = 3) | 3.3192 ± 1.5599 (n = 3) |
| A. naeslundii DSM 43760 | | |
| | 4.5895 ± 0.5141 (n = 3) | 1.5980 ± 1.6906 (n = 3) |
| Gesamt | 4.0038 ± 1.4795 | 2.5574 ± 1.4988 |
| p = 0,006 s | | |

Tabelle 9: Keimzahlen von Aktinomyzeten vor und nach HealOzoneTM-Behandlung von 40 Sekunden in vitro

| Stamm-/ Zahnnummer | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|---------------------------------|---------------------------------------|--|
| A. naeslundii ATCC 27044 | | |
| | 3.5716 ± 0.8334 (n = 3) | 2.5673 ± 1.4515 (n = 3) |
| A. denticola NCTC 11490 | | |
| | 4.3919 ± 0.4002 (n = 6) | 3.0328 ± 1.1749 (n = 6) |
| A. naeslundii DSM 43760 | | |
| | 3.8667 ± 0.6247 (n = 3) | 1.8155 ± 1.6845 (n = 3) |
| Gesamt | 4.0555 ± 0.6367 | 2.6121 ± 1.3411 |
| p = 0,003 s | | |

Tabelle 10: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalfächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 90 Sekunden HealOzoneTM-Behandlung und mit und ohne abschließendem Spülvorgang

| Untersuchung | log CFU vor der Behandlung | log CFU nach der Behandlung |
|-------------------------|---------------------------------------|--|
| Ohne Spülvorgang | 0.7884 ± 0.8286 | 0.7708 ± 1.1764 |
| Mit Spülvorgang | 0.8411 ± 0.9483 | 1.8882 ± 1.6432 |

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller Universität Jena bekannt ist,

ich die vorliegende Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel,

persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Erstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Frau Professor Dr. rer. nat. habil. Susanne Kneist und

Herr Professor Dr. med. dent. Eike Glockmann

sowie die in der Danksagung genannten Personen,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Kronberg, den 23.04.2007

Daniela Vogt

Danksagung

Frau Professor Dr. rer. nat. habil. Susanne Kneist, Biologisches Labor am Zentrum für ZMK und Herrn Professor Dr. med. dent. habil. Eike Glockmann, Direktor der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde am Zentrum für ZMK danke ich herzlich für die Vergabe des Themas, für Ihr Interesse am Gelingen der Arbeit und ihre fachliche Beratung.

Zum Gelingen der Arbeit haben die Erfurter Kollegen Dr. med. dent. Horst und Susan Popp beigetragen, denen ich dafür sehr verbunden bin.

Den Assistentinnen des Biologischen Labors, Frau Regina Mäuer und Frau Katrin von Brandenstein, danke ich herzlich für die Hilfe und fachliche Unterstützung und Beratung während der Einarbeitung und Durchführung der mikrobiologischen Arbeiten. Frau Dipl.-Ing. Renate Kaiser, Elektronenmikroskopisches Labor des Institutes Anatomie II, und Herrn Michael Szabo, Institut für Anatomie, bin ich zu großem Dank für ihre Unterstützung bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen verbunden und die Hilfsbereitschaft bei der Erstellung der Fotodokumentation

Der Firma KaVo Dental Excellence danke ich für die Überlassung des HealOzone™-Gerätes für die Untersuchungen.

Der Thüringer Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde am Klinikum der FSU Jena e.V. danke ich für das Adolph-Witzel-Stipendium 2004, das ebenfalls zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Vogt, Daniela
Geburtsdatum: 23.11.1976
Geburtsort: Quedlinburg
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig
Kinder: Stan Michel Raspe, geb. 2001

Schulbildung

1983 - 1991 Ernst-Thälmann-Oberschule, Ballenstedt
1991 - 1996 Wolterstorff-Gymnasium, Ballenstedt
Juni 1996 Abitur

Ausbildung

1996 - 1998 Ausbildung zur Zahnarthelferin in der Zahnarztpraxis
Frank Rank in Ermsleben

Studium

10/1998 - 12/2005 Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität
in Jena
03/2000 zahnärztliche Vorprüfung (Vorphysikum)
04/2001 – 03/2003 Erziehungsurlaub
03/2002 zahnärztliche Prüfung (Physikum)

15.12.2005 Approbation als Zahnärztin

Berufstätigkeit

16.01. - 31.12.2006 Wissenschaftliche Mitarbeiterin/Assistenz Zahnärztin
am Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität in Jena
Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde (Direktor:
Prof. Dr. med. dent. E. Glockmann)
Tutor im Fachgebiet Kinderzahnheilkunde
(Frau Prof. Dr. med. dent. Annerose Borutta)

01.01.2007 Assistenz Zahnärztin in der Zahnarztpraxis Dr. Thomas Köhnke,
Unterortstrasse 23-25, 65760 Eschborn

Kronberg, den 23.04.2007

Daniela Vogt

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|---|
| A. | A ctinomyces |
| CFU | C olony F orming U nit (koloniebildende Einheit) |
| Cl | Chlor |
| cm ³ | Kubikzentimeter |
| EU | E uropäische U nion |
| FCKW | F luorchlorkohlenwasserstoff |
| Gew.-% | G ewicht-Prozent |
| °C | Grad Celsius |
| g/mol | G ramm pro M ol |
| kJ/mol | K ilojoule pro M ol |
| L. | Lactobacillus |
| λ | Wellenlänge |
| log | Logarithmus |
| MIC | M inimal I nhibierende K onzentration |
| min | Minute |
| ml | Milliliter |
| m/s | Meter pro Sekunde |
| MS-Agar | M itis-salivarius- A gar |
| MSB-Agar | M itis-salivarius- A gar mit B acitracin |
| µg | Mikrogramm |
| µg/ml | Mikrogramm pro Milliliter |
| µg/m ³ | Mikrogramm pro Kubikmeter |
| n | Anzahl der Fälle |
| NaCl | N atriumchlorid |
| NO | Stickstoffoxid |
| NO ₂ | Stickstoffdioxid |
| ns | n icht signifikant |
| O | atomarer Sauerstoff |
| O ₂ | Sauerstoffmolekül |
| O ₃ | Ozon dreiwertiger Sauerstoff |
| OKF | O kkusalfäche |
| PL | P lacebo |

| | |
|--------|---|
| PLB | P lacebo b ehandlung |
| ppm | p arts p er m illion |
| PZR | P rofessionelle Z ahn r einigung |
| s | signifikant |
| S. | S treptococcus |
| sec | Sekunde |
| UV | U ltraviolett |
| Vol.-% | V olumen-Prozent |
| x/s | mal pro Sekunde |

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

| | Seite |
|-------|---|
| 1 | Zusammenfassung |
| 1 | 1 |
| 2 | Einleitung |
| 2 | 3 |
| 2.1 | Die Entdeckung des Ozons |
| 2.1 | 3 |
| 2.2 | Physikalische und chemische Eigenschaften des Ozon |
| 2.2 | 3 |
| 2.3 | Ozon in der Atemluft – Toxikologische Aspekte und biologische Wirkungsweise |
| 2.3 | 5 |
| 2.4 | Zur antimikrobiellen Wirkung des Ozon |
| 2.4 | 7 |
| 2.5 | Ozon in Medizin und Zahnmedizin |
| 2.5 | 8 |
| 2.6 | Ozonytron [®] und HealOzone [™] |
| 2.6 | 11 |
| 3 | Zielstellung |
| 3 | 15 |
| 4 | Material und Methode |
| 4 | 16 |
| 4.1 | Bakterienstämme |
| 4.1 | 16 |
| 4.2 | Untersuchungen zur Effizienz von HealOzone [™] zur Keimreduktion von Mutans-Streptokokken auf Okklusalfächen von Molaren |
| 4.2 | 17 |
| 4.2.1 | Auswahl der Zähne |
| 4.2.1 | 17 |
| 4.2.2 | Mikrobiologisches Vorgehen |
| 4.2.2 | 19 |
| 4.2.3 | Zur Keimreduktion nach Ozon- und Placebobehandlung |
| 4.2.3 | 21 |
| 4.2.4 | Zur Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung |
| 4.2.4 | 22 |
| 4.2.5 | Zur Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung und Ozonbehandlung |
| 4.2.5 | 23 |
| 4.3 | Untersuchungen zur Effizienz von HealOzone [™] zur Keimreduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am Kavitätenboden |
| 4.3 | 23 |
| 4.3.1 | Vorbereitung der Zähne |
| 4.3.1 | 23 |
| 4.3.2 | Zur Effizienz von HealOzone [™] zur Keimreduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am Kavitätenboden |
| 4.3.2 | 24 |
| 4.4 | Rasterelektronenmikroskopische Betrachtung inokulierter Okklusalfächen und Kavitätenböden |
| 4.4 | 25 |
| 4.5 | Statistische Bewertung der Befunde |
| 4.5 | 26 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5 | Ergebnisse | 27 |
| 5.1 | Zur Keimreduktion auf Okklusalfächen durch HealOzone™ | 27 |
| 5.1.1 | Zur Effizienz von HealOzone™ nach 30 sec Behandlungszeit | 28 |
| 5.1.2 | Zur Effizienz von HealOzone™ nach 60 sec Behandlungszeit | 29 |
| 5.1.3 | Zur Effizienz von HealOzone™ nach 90 sec Behandlungszeit | 29 |
| 5.2 | Zur Effizienz einer HealOzone™-Behandlung am Kavitätenboden | 30 |
| 5.2.1 | Zur Keimreduktion von Streptokokken am Kavitätenboden nach HealOzone™-Behandlung | 30 |
| 5.2.2 | Zur Keimreduktion von Laktobazillen am Kavitätenboden nach HealOzone™-Behandlung | 33 |
| 5.2.3 | Zur Keimreduktion von Aktinomyzeten am Kavitätenboden nach HealOzone™-Behandlung | 36 |
| 5.3 | Synoptik der Befunde | 40 |
| 6 | Diskussion | 42 |
| 7 | Schlussfolgerung | 57 |
| 8 | Literatur | 58 |
| 9 | Anhang | 71 |
| | Tabellen | |
| | Danksagung | |
| | Ehrenwörtliche Erklärung | |
| | Lebenslauf | |

1 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden mikrobiologischen Studie war es, mittels adäquater In-vitro-Modelle der Keimreduktion von Mutans-Streptokokken durch Anwendung von HealOzone™ in Fissuren und auf okklusalen Zahnflächen nachzugehen und weiterhin der Keimreduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am Kavitätenboden.

In die erste Teilstudie wurden 120 kariesfreie Molaren mit tiefem Retentionsmuster und ausgeprägter Morphologie einbezogen. Nach standardisierter Vorbehandlung wurden die Molaren zunächst in einer feuchten Kammer 5 Tage bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ gelagert. Nachfolgend wurden sie in Balmellibouillon eingebracht, die 24 Stunden zuvor mit *S. mutans* inokuliert wurde und eine CFU von $2,4 \times 10^7$ pro ml enthielt. Die Molaren wurden 24 Stunden anaerob (VT 5042EK/N₂, Heraeus) bebrütet und danach vier Untersuchungsgruppen zugeteilt: (1) professionelle Zahnreinigung (PZR, Prophyflex 2, KaVo GmbH), (2) Ozonbehandlung, (3) Ozon-Placebo-Behandlung (PLB, HealOzone™ Typ 2130 C, KaVo GmbH) und (4) PZR/Ozonbehandlung. Die Ozonbehandlungen wurden 30, 60 und 90 Sekunden lang vorgenommen. In allen Gruppen bzw. Untergruppen wurden 12 Molaren untersucht.

Vor (rechte Okklusalfäche) und nach (linke Okklusalfäche) den Behandlungen erfolgte eine standardisierte Probenahme mit sterilem Pinsel. Aus Verdünnungsstufen der Proben bis 10^{-8} wurden 0,1 ml dreifach auf Mitis-salivarius-Agar mit Bacitracin (Gold et al. 1973) zur Keimzahlbestimmung ausgespatelt und 7 Tage anaerob bebrütet. Nachfolgend wurden die Keimzahlen berechnet und einer statistischen Analyse unterzogen. *S. mutans* konnte vor den Behandlungen im Mittel mit einer CFU von 4×10^2 auf den 120 Okklusalfächen etabliert werden.

Nach PZR wurden niedrigere Zahlen bestimmt ($p = 0.004$). Vor und nach 30 sec Placebo-, Ozon- bzw. PZR/Ozonbehandlung waren die Keimzahlen gleich hoch ($p = 0.670$, $p = 0.562$, $p = 0.716$). Eine Placebo-, Ozon- und PZR/Ozonapplikation von 60 sec reduzierte die Keimzahlen auch nicht ($p = 0.079$, $p = 0.446$, $p = 0.336$). Erst eine Kombination von PZR und Ozon über 90 sec senkte die Keimzahlen signifikant ($p = 0,000$). Erklärbar wäre die Keimreduktion dadurch, dass die zunächst durch PZR nachgewiesene Keimreduktion durch 30 und 60 Sekunden lange Ozonbehandlung – bedingt durch den entstehenden Sog über den Fissuren – wieder aufgehoben wurde, weil Keime aus den Fissuren erneut auf die durch PZR

zuvor gereinigten Okklusalfächen befördert wurden. Um auch diese Keime wieder abzutöten war eine Verlängerung der Behandlungszeit auf 90 Sekunden notwendig.

In der zweiten Teilstudie wurden nach standardisierter Aufbereitung 80 Molaren mit subjektiv gleich großen Klasse-I-Kavitäten versehen und sterilisiert. Die Molaren wurden mit 0,05 ml einer 24-Stunden-Kultur von Streptokokken in Balmellibouillon, mit einer 48-Stunden-Kultur von Laktobazillen in Rogosabouillon bzw. Aktinomyzeten in Balmellibouillon beimpft und 24- bzw. 48-Stunden anaerob bebrütet. Insgesamt wurden 9 Kavitätenböden mit den Referenzstämmen *S. mutans* NCTC 10449 inokuliert, 12 mit *S. sobrinus* OMZ 176, 8 mit *S. sanguinis* OMZ 9S, 9 mit *L. casei* IMET 10692, 12 mit *L. plantarum* DSMZ 2601, 3 mit *L. coryniformis* DSMZ 20001, 15 mit *A. naeslundii* ATCC 27044 und DSMZ 43760 und 9 mit *A. denticola* NCTC 11490. Die Kavitäten wurden nachfolgend 20 bzw. 40 Sekunden mit Ozon behandelt. Vor und nach jeder Ozonbehandlung wurde eine subjektiv gleiche Menge Dentinspäne mit einem Exkavator vom Kavitätenboden entnommen, in 1 ml NaCl überführt, standardisiert aufgearbeitet und entsprechend der Referenzstämmen auf Mitis-salivarius-Agar mit (Gold et al. 1973) und ohne Bacitracin (Difco) (Streptokokken), auf Rogosa-Agar (Difco) (Laktobazillen) und auf Hirn-Herz-Blutagar (Difco) (Aktinomyzeten) ausgespatelt, 7 Tage bebrütet und die Keimzahlen bestimmt und einer statistische Analyse unterzogen.

Von den mit Streptokokken inokulierten 29 Kavitätenböden konnten vor der Ozonbehandlung Streptokokken mit einer mittleren CFU von $1,5 \times 10^3$ etabliert werden. Eine signifikante Reduktion wurde sowohl nach 20 Sekunden ($p = 0.048$) als auch 40 Sekunden ($p = 0.037$) Behandlungszeit nachgewiesen, die im Mittel jeweils in einer Größenordnung von einer Zehnerpotenz lag. Laktobazillen waren in den 27 Kavitätenböden vor der Ozonbehandlung mit einer mittleren CFU von $7,8 \times 10^3$ etabliert. Sowohl nach einer 20 Sekunden ($p = 0,000$) als auch 40 Sekunden ($p = 0,002$) langen Ozonapplikation lag die Reduktion der Laktobazillen in einer Größenordnung von einer Zehnerpotenz. Von den mit Aktinomyzeten inokulierten 24 Kavitätenböden konnten vor der Ozonbehandlung eine mittlere CFU von $10,7 \times 10^3$ etabliert werden. Eine signifikante Keimreduktion der Aktinomyzeten wurde ebenfalls sowohl nach einer 20 Sekunden langen ($p = 0,006$) als auch 40 Sekunden langen ($p = 0,003$) Ozonapplikation nachgewiesen, die im Mittel in einer Größenordnung von ein bis zwei Zehnerpotenzen lag.

2 Einleitung

2.1 Die Entdeckung des Ozons

Bereits Homer beschrieb in seiner Odyssee mit den Worten: „Der Sturm donnerte und blitzte und die Luft war mit Schwefel angefüllt...“ den typischen Ozongeruch (Dähnhardt und Lussi 2004). 1785 beschrieb der niederländische Chemiker Martin Van Marum den Ozongeruch in der Umgebung von Elektrisiermaschinen beim Durchschlagen elektrischer Funken, und 1801 nahm Cruickshank denselben Geruch an der positiven Anode während der Elektrolyse von Wasser wahr (Lemmerich 1990).

Die ersten wissenschaftlichen Untersuchungen über das Ozon gehen auf Schoenbein zurück, der in Basel den Lehrstuhl für Chemie innehatte. Schoenbein berichtete am 13.03.1839 vor der Gesellschaft für Naturforschung in Basel über die Entdeckung eines neuen Stoffes, der sich bei der Elektrolyse von Wasser an der positiven Platinelektrode neben Sauerstoff bildete (Lemmerich 1990). Da ihn der Geruch an Phosphor oder Schwefel erinnerte, gab er diesem Stoff den Namen Ozon (griechisch: ὄζειν = riechen, duften). Die erste schriftliche Mitteilung erfolgte durch Schoenbein (1840), der wegen des Auftretens des gleichen Geruches bei Blitzeinschlägen auf das Vorkommen von Ozon in der Atmosphäre schloss (Schoenbein 1840).

Über die Natur des Ozons wurde lange diskutiert, Schoenbein selbst hielt Ozon für ein „Wasserstoffhyperoxid“, später auch für eine Modifikation des Sauerstoffs (Liebig und Schoenbein 1900).

Als hervorragendste Eigenschaft erkannte Schoenbein die bleichende Wirkung des Ozons und die Fähigkeit, aus einer Jodkaliumlösung Jod frei zusetzen (Fisch 1936 a, b).

Marignac, de la Rive und Houzeau (1840 - 1845) beschrieben im Ergebnis ihrer Studien Ozon als aktive Sauerstoff-Allotropie mit größerem Energiegehalt als Sauerstoff selbst (Pötsch et al. 1988).

Die erste exakte Bestimmung des Molekulargewichtes von Ozon gelang A. Ladenburg in den Jahren 1898/1899; das Molekulargewicht wurde von Soret und Haries (1898 - 1901) bestätigt. Die Autoren legten das Molekulargewicht von Ozon auf 48 g/mol fest (Fisch 1936 a, b). 1863 gab Soret dem Ozon die chemische Formel O_3 . Von Brühl und Julius Meyer wurde die Strukturformel mit $O=O=O$ als die wahrscheinlichste Form aufgestellt (Fonrobert 1916).

2.2 Physikalische und chemische Eigenschaften des Ozon

Eine erste umfassende Darstellung zur Chemie des Ozons erschien im Jahre 1916 (Fonrobert 1916). In der organischen Chemie ist Ozon das klassische Reagenz für die

Spaltung einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung. Die Untersuchung der bei dieser Ozonolyse entstehenden Spaltungsprodukte, wie Aldehyde und Ketone, ermöglicht eine Strukturbestimmung des Ausgangsmoleküls (Morrison 1986). Ozon ist ein unbeständiges, farbloses bis blaues, hochgiftiges Gas. Der charakteristische Geruch erinnert an Phosphor und Schwefel und wird schon in großen Verdünnungen wahrgenommen und als unangenehm empfunden (Fisch 1936 a, b).

Ozon verflüssigt sich bei einer Temperatur von -112°C und weist dann eine tiefblaue bis schwarze Farbe auf. In diesem Zustand ist es in konzentrierter Form hoch explosiv.

Atomarer Sauerstoff (O), der durch den Zerfall des Sauerstoffmoleküls O_2 entsteht, ist Grundlage der Ozonentstehung; der atomare Sauerstoff verbindet sich sofort mit O_2 zu Ozon.

Bildung und Zerfall von Ozon:



Ozon zerfällt spontan unter Energiefreisetzung und Bildung freier Radikale (Viehbahn-Hänsler 1995 a) mit einer Halbwertszeit von drei Tagen bei 20°C und von drei Monaten bei -50°C (Roempp 1995). In einer Glasspritze mit 50 Milliliter Volumen hat Ozon noch eine Halbwertszeit von 45 Minuten bei 20°C . Der Zerfall ist stark umgebungsabhängig.

O ist die Bezeichnung für aktiven Sauerstoff oder Sauerstoff in statu nascendi, d.h. es entsteht molekularer und atomarer (aktiver) Sauerstoff. Letzterer zeichnet sich durch aktive energetische Wirkung aus; Stoffe können oxydiert werden, die von gewöhnlichem (molekularem) Sauerstoff nicht oder nur in sehr langer Zeit verändert werden (Tracksdorf 1956). Verlangsamt ist der Zerfall bei niedrigen Temperaturen, beschleunigt wird er durch die Anwesenheit von organischen Substanzen und Metalloxiden (Brunner 1937 a, b). Ozon ist eines der stärksten Oxydationsmittel mit prinzipiell zwei verschiedenen - aber nicht streng voneinander zu trennenden - Wirkungsweisen. Es lagert sich als Ganzes an die zu oxidierenden Körper an oder freie Sauerstoffatome verbinden sich. Das dritte, nur lose an die beiden anderen gebundene Sauerstoffatom des Ozons wird leicht exotherm wieder abgegeben und entfaltet im nativen Zustand eine sehr aktive Wirkung (Bär 1935).

Ozon entsteht überall da, wo Sauerstoff in statu nascendi vorkommt oder vorhandenem Sauerstoff Energie zugeführt wird. So bildet es sich in kleinen Mengen bei Erhitzung von Luft oder reinem Sauerstoff, bei der Elektrolyse von Wasser und bei langsamer Oxydation von feuchtem Phosphor.

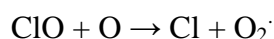
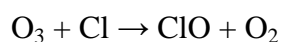
Photochemisch wird Ozon auch durch Strahlen kurzer Wellenlänge gebildet. Insbesondere sind es die ultravioletten Strahlen, die einen Teil des Sauerstoffs in Ozon umwandeln.

Dort wo Ozon aus der Luft durch Funkenentladungen oder andere elektrische Entladungen erzeugt wurde, musste mit der Verunreinigung durch Stickoxide gerechnet werden. Als brauchbarer für die Erzeugung von Ozon erwies sich die stille elektrische Entladung. Die meisten Apparate zur technischen Ozonherstellung beruhten auf diesem Prinzip. So gelang es Werner von Siemens 1857 erstmalig, Ozon technisch zu erzeugen.

Dabei fanden in der nach ihm benannten „Siemens-Röhre“ (Röhren aus Glas oder anderen Nichtleitern), durch die Luft oder reiner Sauerstoff floss, Hochspannungsentladungen in Form der blauen Glimmentladungen statt, unter deren Einfluss aus Sauerstoff Ozon entstand. Es ließen sich Konzentration bis zu 14 Vol% erreichen; eine höhere Konzentration wurde nur durch starke Abkühlung (z.B. 20% bei - 80°C) erreicht. Die Ausbeute und Konzentrationen sind von der Luftgeschwindigkeit, der Feuchtigkeit sowie von der Erwärmung abhängig. Eine Ozonbildung oberhalb von 270°C findet nicht mehr statt, weil dann die Geschwindigkeit der Zersetzung diejenige der Bildung übersteigt (Fisch 1936 a, b). Infolge der raschen Zersetzbarkeit ließen sich technisch nur geringe Ozonmengen herstellen. Im Allgemeinen entstanden Gemische von höchstens 10 bis 20% Ozon. Rein konnte es nur durch fraktionierte Destillation erzeugt werden (Fonrobert 1916).

2.3 Ozon in der Atemluft - Toxikologische Aspekte und biologische Wirkungsweise

Die moderne Geschichte der atmosphärischen Ozonforschung wurde durch einen Aufsatz von Molina und Rowland eingeleitet (Garfield 1988). Die Autoren zeigten, dass Chlor durch die chemisch inerten Fluorchlorkohlenstoffe aus Kühlmittel- und Spraydosengasen in die Stratosphäre gelangen kann, wo die kurzwellige UV-Strahlung zur Abspaltung von Chlor- und Fluoratomen führt, die den Ozonabbau herbeiführen:



Erst die Entdeckung des Ozonloches über der Antarktis durch Farman et al. (1985) führte letztlich zu internationalen Bemühungen um eine Reduzierung der Fluorchlorkohlenwasserstoffproduktion (FCKW).

Das „anthropogene“ Ozon entsteht in bodennahen Schichten der Atmosphäre; der für die Entstehung von Ozon erforderliche atomare Sauerstoff entspringt der Photolyse von Stickstoffdioxid ($\text{NO}_2 \rightarrow \text{NO} + \text{O}$) unter Einwirken von ultraviolettem Licht der Wellenlänge $\lambda < 400 \text{ nm}$ (WHO 1994, Wagner 1995). Als allotrope instabile Form des Sauerstoffs ist das

Ozon geringfügig mit einer Konzentration von 0,02 ppm in der Atmosphäre vorhanden. In den Sommermonaten bestehen nennenswert erhöhte Ozonkonzentrationen.

Seit etwa 20 Jahren werden in Deutschland Ozonmessungen in der Atemluft vorgenommen (Verein Deutscher Ingenieure 1987). Die gemessenen Ozonkonzentrationen zeigen in Langzeituntersuchungen innerhalb vergleichbarer Zeiträume eine tendenzielle Zunahme (Wege 1988) und insbesondere im Plateau während der Mittagszeit (Lioy und Dyba 1989). Neben Ozon entstehen im Zuge des „photochemischen Smogs“ weitere kurzlebige bzw. stabile hochreaktive Produkte, die insbesondere die Augen und oberen Atemwege reizen (Wagner 1995). Mit Steigerung des inhalierten Luftvolumens (körperliche Belastung) nimmt die Aufnahme und Dosis der Schadstoffe zu und über die oberen Atemwege hinaus gelangen sie vermehrt in die nicht durch eine Schleimschicht geschützte Lungenperipherie (Verein Deutscher Ingenieure 1987, Crapo 1989, Miller et al. 1989, Seidel 1996). Nach Wagner (1995) haben die Schadstoffe - im Gegensatz zu Ozon - allergene Eigenschaften und die eintretende Antigen-Antikörper-Reaktion steigert die Entwicklung einer Allergie.

Ozon stellt letztlich aber den Hauptanteil im „photochemischen Smog“. Durch den „photochemischen Smog“ bei körperlicher Anstrengung hervorgerufene Beschwerden (Umweltbundesamt 1983, Environmental Protection Agency 1986, Verein Deutscher Ingenieure 1987, Hazucha 1987, Kehrl et al. 1987, Hazucha et al. 1989, Horstman, et al. 1989, Kehrl et al. 1989, WHO 1994, Wagner 1995) sind in Tabelle 1 dargestellt.

Reizungen bei Belastung von freiwilligen Probanden durch reines Ozon blieben aus. Selbst bei hohen Konzentrationen von $800 \mu\text{g}/\text{m}^3$ über 4 Stunden kam es beispielsweise zu keiner Schädigung des Epithels der Nasenschleimhaut (Carson et al. 1985).

Untersuchungen zur kanzerogenen Wirkung von Ozon ergaben im Tierexperiment bisher keine eindeutigen Hinweise. Da sich in der Atemluft aber auch stets kanzerogene Stoffe befinden, ist eine tumorbildungsfördernde Wirkung durch hohe, wiederholte und über Jahre wirkende Ozonexposition nicht auszuschließen (Environmental Protection Agency 1986, Verein Deutscher Ingenieure 1987).

Das Ozon hat einen starken Hang zur Pleomorphie. Es hat eine feste Rolle in der Regulierung der Funktionalität der Erythrozyten, der Leukozyten, der Thrombozyten und der endothelialen Zellen, die die Blutgefäße umkleiden (Bocci 1994 et al. a, b, Bocci 1996). Die direkte Konsequenz dieser Ozon-Interaktion im Blut ist eine verbesserte Sauerstoffversorgung des peripheren Gewebes (eutrophischer Effekt). Außerdem führt sie zu einer Reduktion

metabolischer Säuren, einer Hypoxie und einer Beschleunigung der Heilung des ischämischen und erkrankten Gewebes.

Tabelle 1: Durch Ozon in der Atemluft hervorgerufene Beschwerden bei körperlicher Anstrengung

| Ozonkonzentration | Beschwerden |
|---------------------------------------|--|
| Ab 180 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ | Reversible Permeabilitätsänderungen im peripheren Lungengewebe |
| Ab 200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ | Befindlichkeitsstörungen Tränenreiz, Reizung der Atemwege, Husten, Kopfschmerz, Atembeschwerden |
| Ab 160 - 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ | Veränderungen von Lungenfunktionsparametern, Zunahme des Atemwegswiderstandes |
| Ab 240 - 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ | Zunahme von Asthmaanfällen |
| Ab 240 - 740 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ | Reduktion der physischen Leistungsfähigkeit |

In der Vergangenheit wurden Grenzwerte, Richtlinien und Empfehlungen für Ozon festgelegt. Ein Immissionsgrenzwert existiert in Deutschland aber nicht (Wagner 1995). Für die EU sind die festgelegten „Schwellenwerte“ (110 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ im 8-Stundenmittel, Unterrichtung der Bevölkerung bei einem 1-Stunden-Mittel von 180 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ sowie Auslösen eines Warnsystems bei einem 1-Stunden-Mittel von 360 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) verbindlich (Europäische Gemeinschaften 1992).

2.4 Zur antimikrobiellen Wirkung des Ozon

Ozon wurde in seiner Giftigkeit etwa dem Chlor, Brom oder Jod gleichgesetzt (Kißkalt 1912). Aufgrund seiner hohen Reaktivität ist es eines der stärksten Zellgifte und wirkt bakterizid, fungizid und viruzid (Viehbahn-Hänsler 1995 b).

Bei der Inaktivierung von Bakterien kommt es zu einer Oxidationsreaktion durch die freien Radikale an der Bakterienmembran. Es folgt eine Störung der Zellwandpermeabilität mit anschließender Zelllyse. So konnten Bünning und Hempel (1996) zeigen, dass die Zellwand von *Escherichia coli* durch ozoniertes Wasser zunächst geschädigt wird und nachfolgend die metabolische Aktivität zum Stillstand kommt.

Bei Viren dagegen kommt es zum Verlust der Replikationsfähigkeit innerhalb der Wirtszelle. Die Polypeptidketten und die Hüllproteine der Viren werden geschädigt (Ohlmüller 1902).

So wird das Capsid mit seinen Proteinen so verändert, dass eine Anlagerung der Viren an den Zelloberflächen nicht mehr möglich ist. Beim Poliovirus 1 werden beispielsweise vier

verschiedene Polypeptide verändert. Roy et al. (1981) konnten weiterhin nachweisen, dass die virale DNA durch das Ozon irreversibel geschädigt wird.

Erste Angaben über die antimikrobielle Wirkung des Ozons im Wasser liegen etwa 100 Jahre zurück (Ohlmüller 1893). Als Wasserdessinfektionsmittel wurde es gegen Cholera- und Typhusbakterien eingesetzt (Filippi 1999). Mit Colikeimen bis 250000 pro cm³ infiziertes Flusswasser wies nach Ozonierung eine Verminderung der Keime auf; höchstens ein Colibakterium entfiel noch auf 16 bis 25 cm³ (Filippi et al. 1991, Wallhäußer 1995). Die Ozonwirkung tritt in Wasser im Vergleich zu Chlor schneller ein (Bringmann 1954, Fischer et al. 1978). Allerdings sind nicht alle Mikroorganismen in gleicher Weise ozonempfindlich. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Serratia marcescens*, aber auch *Candida albicans* (erforderliche Ozonkonzentration zur Elimination 0,05 - 0,7 µg/ml) sind ozonempfindlicher als Staphylokokken (3 - 5 µg/ml) oder Salmonellen (etwa 5 µg/ml) (Hettche und Schulz-Ehlbeck 1953, Suchkow 1967, Häufele und von Sprockhoff 1973, Thraenhart und Kuwert 1975). Empfindlichkeitsunterschiede bestehen auch bei Viren. Enteroviren und Rotaviren (Mahnel 1988), Hepatitis-A- und HIV-Viren (Botzenhardt und Herbold 1988, Herbold et al. 1989, Carpendale und Freeberg 1991, Wells et al. 1991) sind bei einer erforderliche Ozonkonzentration im Wasser von 0,1 - 4 µg/ml ozonempfindlicher als Poliomyelitis-Viren und Coxsackie-Viren. Bei Konzentrationen über 5 µg/ml werden alle Mikroorganismen im wässrigen Milieu erfasst (Wallhäußer 1995).

Ozon wird heute in Kombination mit anderen Verfahren zur Qualitätssicherung von Trinkwasser, Schwimmbadwasser und Abwasser eingesetzt (Rice et al. 1981, Joret et al. 1982, Prucha 1986, Filippi et al. 1991, Wallhäußer 1995, Beck und Schmidt 1996) und trägt gleichzeitig zur Verbesserung der organoleptischen Eigenschaften wie Farbe, Geschmack und Geruch bei (Rice et al. 1981, Prucha 1986, Masschelein 1995).

2.5 Ozon in Medizin und Zahnmedizin

Die antibakterielle Wirkung des Ozons war nicht der alleinige Grund für den zunehmenden Einsatz in der Medizin. Ozon wirkt ohne Auftreten starker Reizungen im Gewebe austrocknend und granulationsbildend. Damit geht eine Steigerung der Phagozytose einher, so dass als Gesamtergebnis eine Mobilisation und Unterstützung der natürlichen Abwehrkräfte des Organismus erreicht wird. Für den therapeutischen Einsatz ist auch die sedative bzw. anästhesierende Wirkung des Ozons wertvoll. Über gute Erfolge in der Wundbehandlung bei Verbrennungen und Erfrierungen berichteten bereits Wolff (1920), Torraca (1924),

Lieben (1925) und Bär (1935). Wolff (1920) beobachtete bei Wundbehandlungen neben der Hemmung des Bakterienwachstums und Anregung der Granulationsbildung auch eine schnelle Beseitigung des übelriechenden Geruches. Diese günstige Wirkung besteht speziell in der raschen Abstoßung nekrotischen Gewebes (Lieben 1925). Bär (1935) behandelte pyogene Infektionen und Dermatosen mit Ozon. Es wurde vor allem auf die antibakterielle Wirkung des Sauerstoffs geschlossen.

Seit über 40 Jahren findet das Ozon auch Anwendung in der Eigenbluttherapie. Dabei wird dem Patienten zuvor entnommenes und mit einem Ozon-Sauerstoffgemisch versetztes Blut intravenös oder intramuskulär wieder zugeführt. Von Erfolgen der Behandlung wurde bei Patienten mit Arteriosklerose in den unteren Extremitäten berichtet (Tylicki et al. 2001).

Nach heutigem Wissensstand führt Ozon in entnommenem und extrakorporal mit Ozon behandeltem Vollblut zu einer erhöhten zellulären Freisetzung von Interferonen (Bocci und Paulesu 1990, Bocci et al. 1993 a, b, Bocci et al. 1994 a, b), Interleukinen (Bocci et al. 1993 a, Bocci et al. 1993 b, Bocci et al. 1994 a, Bocci et al. 1994 b), Tumornekrosefaktor TNF- α (Paulesu et al. 1991, Bocci et al. 1994 a, b), des Granulozyten-Makrophagen-Koloniestimulierenden Faktors (Bocci et al. 1993 a, Bocci et al. 1993 b, Bocci et al. 1994 a) und des Wachstumsfaktors TGF- β (Bocci et al. 1994 b). Devlin et al. (1991), Polzer et al. (1993) und Mosbach et al. (1994) berichteten über die Wirkung von Ozon auf Alveolarmakrophagen in vitro, die zu einem erhöhten Freisetzen von Fibronektin, Tumornekrosefaktor, Interleukin IL6 und IL8 sowie eines für Alveolarmakrophagen wirksamen Chemotaxins (MAK-ChF) führten. Unter Ozoneinfluss schütteten Alveolarmakrophagen Migrationsfaktoren aus, die auf Neutrophile und Monozyten einwirken (Driscoll und Schlesinger 1988). Diese In-vitro-Befunde wurden in vivo bestätigt; eine Zunahme von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten wurde nach Ozonexposition beobachtet (Driscoll et al. 1987, Driscoll und Schlesinger 1988, Koren et al. 1989, Devlin et al. 1991, Koren et al. 1991, Chang et al. 1992).

Die erhöhte Ausschüttung von Zytokinen - insbesondere TGF- β 1 - könnte neben verbesserter Sauerstoffversorgung, Wunddesinfektion und Stoffwechselaktivierung (Shiratori et al. 1993) ein weiterer heilungsprotektiver ozoninduzierter Effekt sein (Bocci 1995). Nachgewiesen wurde eine Korrelation zwischen Zytokinproduktion und Ozonkonzentration (Bocci et al. 1993 a, Bocci et al. 1993 b, Polzer et al. 1993). Ferner wird von einer Immunstimulation durch Zytokinproduktion ausgegangen (Bocci et al. 1994 a, b).

Der Gedanke, Erkrankungen des Parodontiums mit Ozon zu behandeln, geht auf Leger-Dorez zurück, der schon 1890 empfahl, nach Wurzelkanalaufbereitung mit einer feinen Kanüle Ozon

durch das Foramen apicale in die periapikalen und parodontalen Gewebe zu leiten (Rebel 1947). In der gleichen Zeit applizierte Dunlop (1929) Ozon in die Zahnfleischtaschen, wo Ozon eine natürliche Affinität zum erkrankten Gewebe haben sollte. Nach Bär (1935) ließ sich durch diese frühen Versuche nachweisen, dass Ozon eine starke bakterizide Wirkung gegenüber aeroben und anaeroben Mikroorganismen hat und letztlich die Abwehrvorgänge in den erkrankten Zellen und Geweben durch Mobilisation der defensiven Kräfte steigert.

Auch der Gedanke einer Dentindesinfektion mit Ozon ist nicht neu. 1928 wurde das Gas durch einen Luftbläser in die Kavität eingebracht, um die Mikroorganismen im kariösen Dentin abzutöten (Jolivet 1928). Ozon, wie es damals in der Zahnheilkunde verwendet wurde, war ein Gasgemisch aus Sauerstoff mit etwa 0,4 bis 3 Vol.-% Ozon. Jede Ozontherapie ist deshalb auch eine Sauerstofftherapie. Zu den bekannten biologischen, die Zelltätigkeit und die Phagozytose anregenden Eigenschaften des Sauerstoffs kommt die bakterizide Wirkung des Ozons hinzu (Brunner 1937 a, b).

Weinmann (1925) hob hervor, dass Ozon gegenüber allen sonst bislang verwendeten desinfizierenden Agenzien den Unterschied und auch den Vorzug hat, dass es direkt in gasförmigem Zustand genutzt wird und in Zahnfleischtaschen und kariösem Dentin noch eine gute Fernwirkung hat.

Der Züricher Zahnarzt Fisch (1936 a, b) führte zur Keimreduktion von Streptokokken, Staphylokokken und Mischkulturen aus der Mundhöhle verschiedene Versuche mit unterschiedlicher Ozonkonzentration durch. Er benutzte dazu den von ihm entwickelten Cytozon-Apparat und brachte das Gas auf Agarkulturen in einer Dunkelkammer bei konstanter Zimmertemperatur von 18°C auf. Die höchste eingesetzte Ozonkonzentration von 3 Vol.-%. genügte, um in einer Zeit von 15 - 30 Minuten 96% der Keime auf dem Agar abzutöten. An Kulturen, die mit Ozon behandelt wurden, beobachtete Fisch (1936 a, b) auch eine Verlangsamung des Bakterienwachstums. Nach Fisch (1948) setzten auch Overdiek und Honrath (1951) das Ozon zur Therapie gangränöser Wurzelkanäle ein. Bis in die 70er Jahre des letzten Jahrhunderts nahm dann das Interesse am Ozon in der Zahnheilkunde ab. Erst mit der Entwicklung des Hydrozotome (Sandhaus 1969) stieg das Interesse wieder.

Heute wird das Ozon zur Desinfektion herausnehmbarer Prothesen empfohlen, zur adjunktiven Behandlung kariöser Kavitäten, infizierter Wurzelkanäle und exponierter Wurzelkariesoberflächen, zur Prävention von Karies und Wurzelkaries und auch während einer kieferorthopädischen Behandlung mit Multibandapparaturen (Baysan et al. 2000, Baysan und Lynch 2001, Filippi 2001, Baysan 2002, Abu-Naba`a et al. 2003, Morrison und Lynch 2003, Lynch 2004, Santoro et al. 2005, Huth et al. 2005).

Auch bei der Behandlung peripherer Geschwüre hat die topische Applikation des dreiatomigen Sauerstoffs eine Reihe von wichtigen therapeutisch-präventiven Mechanismen aufgezeigt. Dazu zählen die effektive antibakterielle und mikrobizide Wirkung, die Induktion und Verbesserung der lokalen Diffusion von Erythrozyten mit Verbesserung der globalen Sauerstoffanreicherung im Gewebe, eine sekundäre Gefäßerweiterung frei von phlogistischen Prozessen, eine ausgeprägte Neo-Angiogenese und die Aktivierung und Wiederfreisetzung von heilungsfördernden Wachstumsfaktoren (Sandhaus 1968, Gehring et al. 1990, Gehring et al. 1992, Herzog et al. 1995, Turcic et al. 1995, Sader et al. 1996, Filippi 1999). Aber auch eine Steigerung des Zellstoffwechsels und ein erhöhtes Ausschütten wundheilungsrelevanter Zytokine wird unter Einfluss geringer Ozonkonzentrationen auf Zellen beobachtet (Bocci und Paulesu 1990, Paulesu et al. 1991, Bocci et al. 1993 a, Bocci et al. 1993 b, Bocci et al. 1994 a, Bocci et al. 1994 b, Bocci 1995). Erste Untersuchungen nach intraoperativem Einsatz von nicht-isotonem Ozonwasser im Vergleich zu steriler isotoner NaCl-Lösung bei chirurgischen Eingriffen am Kieferknochen ergaben jedoch keine Hinweise auf Unterschiede bezüglich des postoperativen Heilungsverlaufs und der postoperativen entzündlichen Komplikationsrate (Filippi 1998).

Mit der Entwicklung zahnärztlicher Behandlungseinheiten mit hochtourigen Hand- und Winkelstücken und der Notwendigkeit ihrer Kühlung mit Wasser kam auch für diesen Indikationsbereich das Ozon vor etwa 15 Jahren in die Diskussion (Filippi et al. 1991).

Nach Filippi (1995) erbrachte das Vorschalten eines Ozonwassergenerators vor die zahnärztliche Behandlungseinheit gute mikrobiologische Ergebnisse; der Richtwert der Trinkwasserverordnung wurde nicht überschritten. Pseudomonaden wurden im kontrollierten Wasser nicht nachgewiesen. Langzeituntersuchungen bestätigen die gute antimikrobielle Wirksamkeit und belegten im Vergleich mit herkömmlich desinfizierten Behandlungseinheiten die Effizienz des Ozons im Kühlwasser (Filippi 1995).

2.6 Ozonytron[®] und HealOzone[™]

1999 wurde durch die Firma Mymed (heute Ultradent) ein zeitgemäßes Ozongerät auf den Markt gebracht (Abb. 1), dass die Diskussion zum Einsatz des Ozons in der Zahnheilkunde erneut erweckte.

Auch die Firma KaVo erkannte das medizinische Potential des Ozons und führte 2003 das HealOzone[™]-Gerät auf dem Dentalmarkt ein (Abb. 2).

Beim Ozonytron[®] (Mymed) erfolgt die Ozonherstellung nach dem Prinzip der elektrischen Entladung von Edelgas in einer Glasröhre durch Spaltung von Sauerstoff aus der Umgebung.

Das Ende der Glasröhre ist je nach Anwendungswunsch unterschiedlich geformt. Ozon wird je nach Einstellung in unterschiedlichen Konzentrationen zwischen zehn bis 100 µg/ml mit 105 - 525 ppm an der Spitze des entsprechenden Therapieansatzes erzeugt. In der Umgebung kommt es zu einem raschen Konzentrationsabfall. Da keine Vorrichtung zur Rücksaugung existiert, kann es zu einer Ozonfreisetzung im Mund kommen.



Abbildung 1: Ozonytron® der Firma Ultradent



Abbildung 2: HealOzone™-Gerät von der Firma KaVo Dental

Eine Unbedenklichkeit der Freisetzung von Restozon in der Mundhöhle ist nicht belegt; deshalb wird beim Gebrauch dieses Gerätes Zurückhaltung angeraten (Noack 2005).

Beim HealOzon™-Gerät ist die Ozonkonzentration mit 2100 ppm wesentlich höher als beim Ozonytron®. Die Wirkung des Ozons auf die Keimelimination soll nach Angaben des Herstellers schneller als diejenige von Chlorderivaten oder Chlorhexidin sein.

Die Geschwindigkeit des Ozon-Luftgemisches beträgt bei Austritt aus dem Handstück 5 m/sec. Diese kinetische Energie der Teilchen soll die therapeutische Tiefenwirkung unterstützen. Zahn und Gerät werden mit Silikonkappen verbunden und der Austausch des Gasvolumens unter den Silikonkappen erfolgt ~100 x/sec. Somit wird garantiert, dass immer ausreichend Oxidationsmittel und eine Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes in Richtung Oxidation und eine Tiefenwirkung durch physikalische Konzentrationsausgleichsvorgänge gesichert sind. Das HealOzone™-Gerät besteht aus einem Ozongenerator, einer Vakuumpumpe und einer Neutralisationseinheit (Abb. 3).

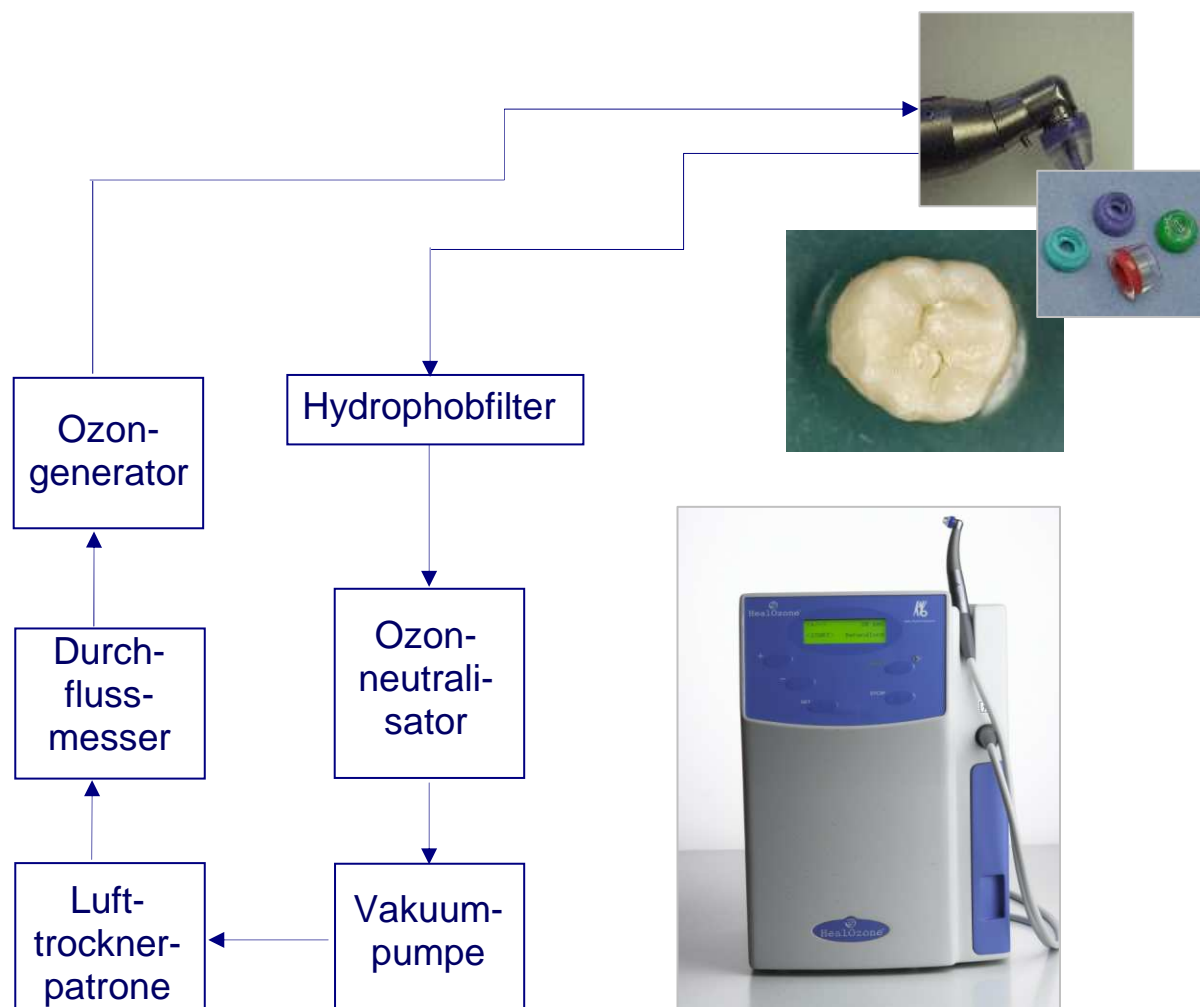


Abbildung 3: Aufbau und Funktionsweise des HealOzone™-Gerätes

Im Ozongenerator wird das Ozon erzeugt und über einen Schlauch in ein spezielles Handstück geleitet. Eine Silikonkappe am Ende des Handstücks wird auf die zu behandelnde Stelle aufgesetzt und dichtet sie gegen die Umgebungsluft ab. Unter der Silikonkappe wird durch eine Vakuumpumpe ein stabiles Vakuum erzeugt; erst dann wird Ozon aus dem

Generator freigesetzt. Kommt kein Vakuum zu Stande oder wird das Vakuum unterbrochen, wird durch ein Ventil sofort die Ozonzufuhr abgeriegelt.

Dieser Sicherheitsmechanismus gewährleistet, dass kein Ozon in den Mund bzw. in die Umgebungsluft gelangen kann. Über das Vakuum wird bei Beendigung der Behandlung überschüssiges Ozon von der behandelten Stelle wieder vollständig abgesaugt und in einem Katalysator am Ende des Kreislaufs durch Umwandlung in Sauerstoff wieder unschädlich gemacht. Um zu vermeiden, dass bei der Absaugung Speichel in das Handstück gelangt, soll nach Noack (2005) der Zahn sorgfältig trockengelegt werden.

Mit Entwicklung der beiden letzten Geräte wurde verstärkt Ozongas in der Zahnheilkunde eingesetzt bzw. empfohlen. So zeigten Baysan et al. (2000), dass Ozongas einen Bakterienrasen von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sobrinus* auf Agaroberflächen effizient abtötet. Nachfolgend konnte Baysan (2002) auch zeigen, dass Wurzelkaries mit einer Ozonapplikation (HealOzone™, KaVo) zum Stillstand gebracht werden kann.

Lynch (2004), ein enthusiastischer Befürworter des Ozons, der an der Entwicklung des HealOzone™-Gerätes massgeblich beteiligt war, gab unter dem Titel „Ozone: The Revolution in Dentistry“ eine aktuelle Übersicht von Berichten und Studien zur Entwicklung und über die Grundlagen der Ozonanwendung und -wirkungsweise in der Zahnheilkunde heraus.

So können heute nach Lynch (2004) durch Ozon in mehr als 96% kariöse Läsionen im Schmelz an Glattflächen und Fissuren und bei Wurzelkaries remineralisiert werden. Auch bereits verfärbtes erweichtes Dentin wird wieder hart; Verfärbungen bleiben allerdings bestehen. Für die Approximalkaries steht noch keine geeignete Applikationsform zur Verfügung (Lynch 2003).

Nach Lynch (2003) ist die Patientenzufriedenheit nach Ozonbehandlung sehr gut. So waren 99% der in einer Studie befragten Patienten zufrieden und würden die Behandlung wieder durchführen lassen (Lynch 2003). Allerdings liegen heute im Schrifttum auch zunehmend kontroverse Diskussionen zur Effizienz der Ozontherapie in der Zahnheilkunde vor (Rickard et al. 2004, Brazzelli et al. 2006).

Die vorliegende In-vitro-Studie widmet sich daher erneut der keimreduzierenden Wirkung des Ozons auf Okklusalfächen und am harten, klinisch akzeptablen Kavitätenboden.

3 Zielstellung

Es ist vorstellbar, dass eine HealOzone™-Behandlung nach professioneller Zahnreinigung auf der Okklusalfäche zur weiteren Reduktion der mikrobiellen Besiedlung beiträgt und damit die Bedingungen für eine remineralisierbare Zahnfläche schafft. Die vorliegende Studie sollte deshalb in einem In-vitro-Modell der Keimreduktion von Mutans-Streptokokken auf der Okklusalfäche durch verschieden lange Ozonbehandlungen nachgehen.

Ein weiteres Ziel war die Keimreduktion am harten Kavitätenboden durch Ozon. Es stand die Frage im Raum, ob in Abhängigkeit von der Behandlungszeit restierende Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am Kavitätenboden durch Ozon eradiziert werden können.

Als Hypothese für die In-vitro-Untersuchungen wurde angenommen, dass

- die Keimzahlen nach einer HealOzone™-Behandlung auf der Okklusalfäche signifikant reduziert werden.
- die Keimzahlen nach einer vorangegangenen Zahnreinigung (PZR) durch Ozonapplikation nochmals deutlich sinkt.
- restierende Keimzahlen in Höhe von 10^{2-3} durch eine HealOzone™-Behandlung am Kavitätenboden beherrschbar sind.

4 Material und Methode

4.1 Bakterienstämme

Für die In-vitro-Studie wurden Referenzstämme ausgewählt, die in der natürlichen Mundhöhlenflora zum Biotop der Okklusalfächen bzw. des klinisch harten Kavitätenbodens zählen (Tab. 2).

Tabelle 2: In die Untersuchung einbezogene Bakterienstämme

| Taxon | Stammnummer |
|----------------------------|-------------------------|
| Okklusalfäche | |
| Streptococcus mutans | NCTC 10449 ¹ |
| Kavitätenboden | |
| Streptococcus mutans | NCTC 10449 |
| Streptococcus sobrinus | OMZ 176 ² |
| Streptococcus sanguinis | OMZ 9S |
| Lactobacillus casei | IMET 10692 ³ |
| Lactobacillus plantarum | DSMZ 2601 ⁴ |
| Lactobacillus coryniformis | DSMZ 20001 |
| Actinomyces naeslundii | DSMZ 43760 |
| Actinomyces naeslundii | ATCC 27044 ⁵ |
| Actinomyces denticola | NCTC 11490 |

¹ National Collection of Type Cultures (NCTC), London, UK

² Dept. of Oral Microbiology and General Immunology (OMZ), Dental Institute, Zürich, Schweiz, Prof. B. Guggenheim

³ Zentralinstitut für Mikrobiologie und Experimentelle Therapie (IMET), Jena, Deutschland, Prof. W. Köhler

⁴ Deutsche Sammlungen für Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Braunschweig

⁵ The University of Manitoba, Faculty of Dentistry Department of Oral Biology, Winnipeg, Manitoba, Canada R3E 0W3, American Type Culture Collection (ATCC), Prof. Bowden

Die Bakterien lagen als Stammkonserven in Microbanks (Mast Diagnostica, Reinfeld) bei -18°C im Tiefkühlschrank vor (Abb. 4). Zur Aktivierung der Stämme wurden je vier Keramikperlen aus der entsprechenden Stammkonserve entnommen und in ein Kulturröhrchen mit 10 ml Balmellibouillon (10g Bacto-Tryptose, 5g Hefe-Extrakt, 5g K₂PO₄, 3g Fleischextrakt, 50g Saccharose, ad 1000 ml Aqua dest.; pH 7,2) eingebracht.

Die Reaktivierung der Kulturen erfolgte 24 Stunden für Streptokokken bzw. 48 Stunden für Laktobazillen und Aktinomyzeten im Anaerobierbrutschrank (95% N₂, 5% CO₂; Anaerobierbrutschrank VT 5042EK/N2, Heraeus Instruments Hanau, Deutschland) bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

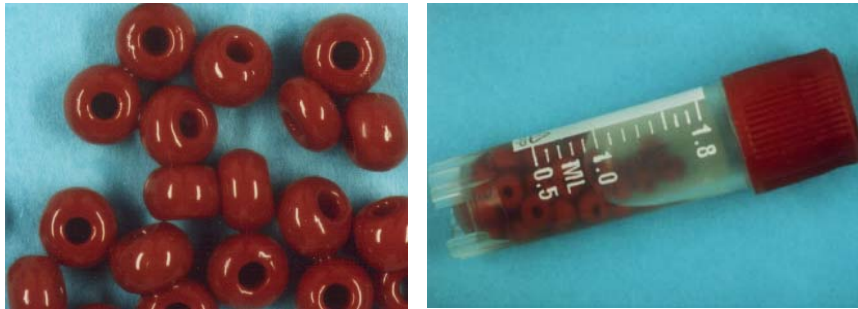


Abbildung 4: Microbanks (Mast Diagnostica, Reinfeld) mit Keramikperlen zur Haltung der Bakterienstämme

4.2 Untersuchungen zur Effizienz von HealOzone™ zur Keimreduktion von Mutans-Streptokokken auf Okklusalfächen von Molaren

4.2.1 Auswahl der Zähne

Aus kieferorthopädischen Gründen extrahierte Molaren (Kieferchirurgische Praxis Dr. H. Popp, Erfurt) mit deutlich sondierbaren bzw. tiefen Fissuren (Grad 2 und 3, Tab. 3) und höckerigem Fissurenrelief (Grad 3, Tab. 3) wurden für die Untersuchungen ausgewählt und auf drei Untersuchungsserien, eine 30 (A), 60 (B) und 90 Sekunden (C) andauernde Ozonbehandlung, verteilt. Insgesamt handelte es sich um 120 Molaren.

Tabelle 3: Graduierung von Retentionsmuster und okklusaler Morphologie

| Retentionsmuster und Graduierung | | Okklusale Morphologie und Graduierung | |
|-----------------------------------|----------|---------------------------------------|----------|
| Nicht sondierbares Fissurenrelief | 0 | Flache Anatomie | 1 |
| Leichtes Fissurenrelief | 1 | Normale Anatomie | 2 |
| Deutliche Sondierung | 2 | Höckeriges Fissurenrelief | 3 |
| Tiefes Fissurenrelief | 3 | | |

In jede Untersuchungsserie (A, B, C) wurden die Molaren weiterhin auf vier Untersuchungsgruppen verteilt: (1) Professionelle Zahnreinigung (PZR, Prophylflex 2, KaVo GmbH), (2) HealOzone™-Behandlung (HealOzone™ Typ 2130 C, KaVo GmbH) (3) HealOzone™-Placebo-Behandlung (PLB, HealOzone™ Typ 2130 C, KaVo GmbH) und (4) PZR- HealOzone™-Behandlung (Abb. 5, Tab. 4).

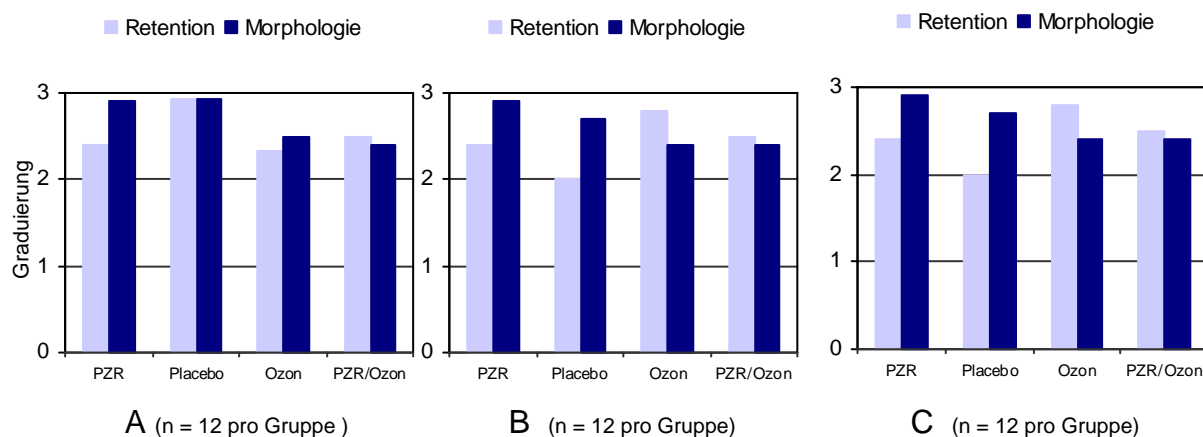


Abbildung 5: In die In-vitro-Untersuchungen einbezogene Okklusalfächen von Molaren mit höckerigem Fissurenrelief (Morphologie) und mit deutlicher Sondierung bzw. mit tiefem Fissurenrelief (Retentionsmuster) (A: Serie 30 sec, B: Serie 60 sec, C: Serie 90 sec; professionelle Zahnreinigung = PZR, Placebo = PL, HealOzone™ = Ozon)

Tabelle 4: Anzahl der mit und ohne HealOzone™ bzw. nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und PZR/HealOzone™ behandelten Molaren (n = 120)

| Behandlung in Sekunden | HealOzone™ | | | Placebo | | | PZR | PZR/ HealOzone™ | | |
|---------------------------|------------|----|----|---------|----|----|-----|--------------------|----|----|
| | 30 | 60 | 90 | 30 | 60 | 90 | | 30 | 60 | 90 |
| Anzahl der Molaren | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Die gesäuberten Molaren wurden in knetbares und dünn fließendes Silikon (Flexitime, Fa. Heraeus/Kulzer) eingebettet, im Autoklav (Varioklav Dampfsterilisator Typ 500, Oberschleißheim) bei 121°C für 15 min sterilisiert und in einer feuchten Kammer für 5 Tage bei 37°C gelagert. (Abb. 6).



Abbildung 6: In Flexitime (Fa. Heraeus/Kulzer) eingebetteter Molar (links) und Lagerung im Anaerobierbrutschrank VT 5042EK/N2, (Heraeus Instruments Hanau, Deutschland) (rechts)

4.2.2 Mikrobiologisches Vorgehen

Nach 5tägiger Inkubation wurden die Zähne in Balmellibouillon für 24 Stunden anaerob bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ bebrütet (Abb. 7). Die Bouillon war zuvor mit *Streptococcus mutans* NCTC 10449 inokuliert und 24 Stunden anaerob (Anaerobierbrutschrank VT 5042EK/N2, Heraeus Instruments Hanau, Deutschland) bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ bebrütet worden. Abbildung 7 zeigt ein stereomikroskopisches (links) und rasterelektronenmikroskopisches Bild (rechts) einer mit *S. mutans* kolonisierten Okklusalfäche; hier wurde Mitis-salivarius-Bouillon verwendet, die die Makrokolonien blau färbt.

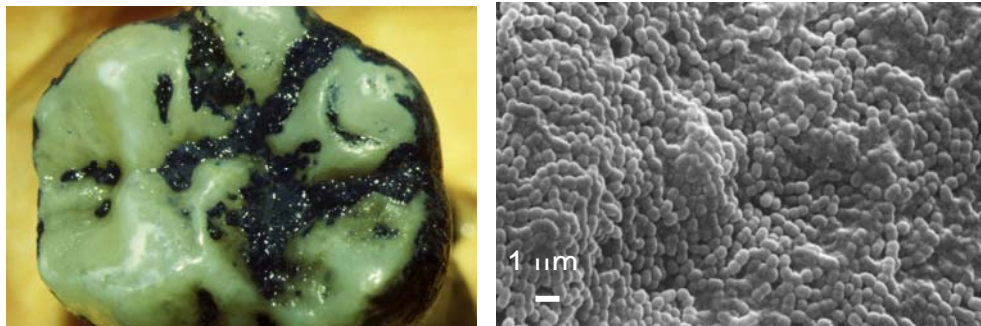


Abbildung 7: Stereomikroskopisches Bild einer mit *Streptococcus mutans* inokulierten Okklusalfäche (links) nach 24stündiger Bebrütung in Mitis-salivarius-Bouillon und Ausschnitt der Kolonisierung im rasterelektronenmikroskopischen Bild (rechts)

Da die Keimzahlen vor und nach der jeweiligen Behandlung der Okklusalfäche mit einem Pinsel (Einwegpinsel, Ivoclar Vivadent AG, Ellwangen) kontrolliert werden sollte und dazu die rechte Okklusalfäche in Frage kam, wurde die Reproduzierbarkeit der Methode zuvor überprüft. Dazu wurden 22 Molaren zunächst mit einer Impfsuspension von *S. mutans* NCTC 10449 mit mittlerer CFU von $\log 7.2502 \pm 0.3379$ ($\sim 2 \times 10^7$ Keime) beimpft und 24 Stunden bebrütet. Nachfolgend wurde von der rechten und von der linken Okklusalfäche

getrennt mit einem Pinsel (6maliges Abstreifen) jeweils eine Probe entnommen. Die entsprechende Pinselspitze wurde in 1 ml sterile physiologische Kochsalzlösung eingebracht und nachfolgend eine Verdünnungsreihe in 4,5 ml steriler Kochsalzlösung in Dezimalschritten bis 10^{-6} bzw. 10^{-7} zur Keimzahlbestimmung angelegt. Je 0,1 ml aus den Verdünnungsstufen wurden auf drei Petrischalen mit Mitis-salivarius-Agar (Difco) mit Bacitracin (Gold et al. 1973) ausgespatelt. Die Bebrütung der Petrischalen erfolgte sieben Tage anaerob bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ in Anaerobiertöpfen (BBL Gas Pak-Anaerobic System, Maryland, USA). Im Anschluss an die Bebrütung wurden von geeigneten Verdünnungsstufen (100 bis 150 Kolonien) die Koloniezahlen pro Probenahme bestimmt (Abb. 8), die Mittelwerte berechnet und die Keimzahlen der rechten und linken Okklusalfächen im Paarvergleich einer statistischen Überprüfung unterzogen.

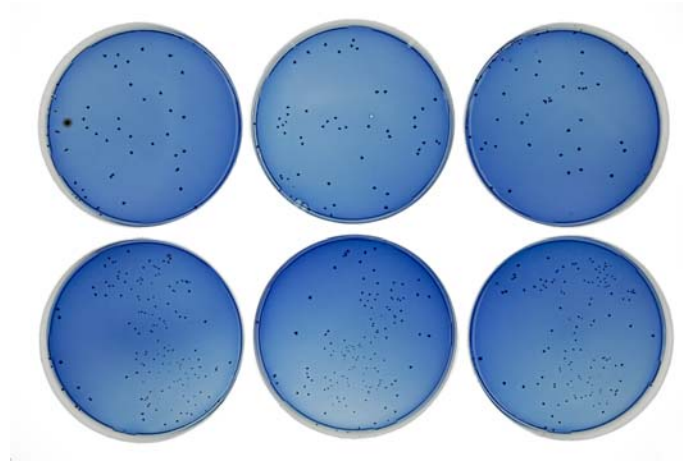


Abbildung 8: Petrischalen mit Kolonien von *S. mutans* NCTC 10449 auf Mitis-salivarius-Agar mit Bacitracin **Oben:** Dreifachbestimmung Verdünnungsstufe 10^{-3} von der rechten Okklusalfäche **Unten:** Dreifachbestimmung Verdünnungsstufe 10^{-3} von der linken Okklusalfäche

Die Keimzahlen (CFU, colony forming unit, koloniebildende Einheit) von den rechten (log CFU 1.8061) wie auch linken (log CFU 2.1967) Okklusalfächen erwiesen sich als gleich ($p = 0.087$) (Abb. 9).

Die Probenahme zur Keimzahlbestimmung in den nachfolgenden Versuchen erfolgte vor der Behandlung nun immer von der rechten Okklusalfäche und nach der jeweiligen Behandlung immer von der linken Okklusalfäche. Die Probe wurde durch 6maliges Abstreichen von der entsprechenden Fissurenseite unter sterilen Bedingungen in einer Werkbank (Heraeus Lamin Air, HBB 2448, Hanau, Deutschland) entnommen und – wie oben bereits angeführt – aufgearbeitet (Abb. 9).

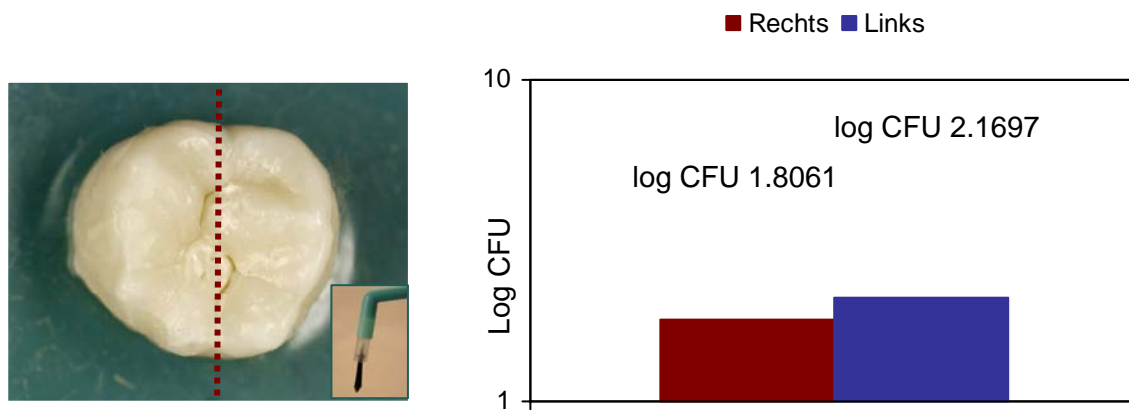


Abbildung 9: Probenahme von der rechten und linken Okklusalfäche (n = 22) mit einem Pinsel (links) und mittlere Keimzahlen (log CFU) auf der linken (1.8061 ± 1.3110) und rechten (2.1697 ± 1.7782 ; $p = 0,087$) Okklusalfäche (rechts)

4.2.3 Zur Keimreduktion nach Ozon- und Placebobehandlung

In drei Untersuchungsserien erfolgte nun die Ozonapplikation für 30 sec, 60 sec bzw. 90 sec mit dem Gerät HealOzone™ 3, Typ 2130 C (KaVo, Biberach). Die Funktionstüchtigkeit des Gerätes wurde mit dem Latextest während jeder Untersuchungsserie vorgenommen (Abb. 10). Eine Negativkontrolle (Placeboeffekt) ohne HealOzone™ wurde mit dem gleichen Gerät durchgeführt, das speziell für diese Untersuchungen umgestellt wurde.

Es wurde weiterhin geprüft, ob der abschließende Spülvorgang des Gerätes, der 10 Sekunden andauert, zu einer weiteren Keimdynamik auf den Okklusalfächen führt. Dazu wurden zusätzlich 12 Okklusalfächen vor und nach dem Spülvorgang nach o.g. Vorgehen (Kap. 4.2.2) untersucht.

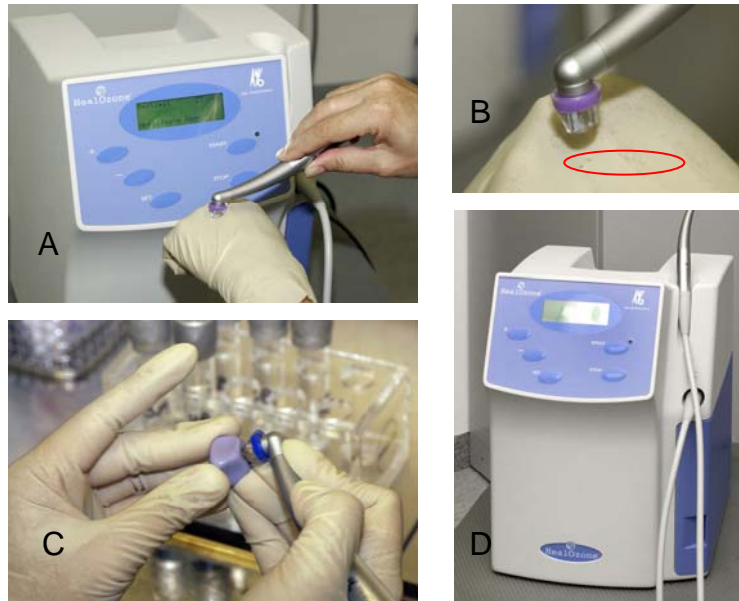


Abbildung 10: HealOzone™-Behandlung (C) (HealOzone™ 3, Typ 2130 C, KaVo, Biberach, D) in der Werkbank (Heraeus Lamin Air, HBB 2448, Hanau, Deutschland) und Latextest (A, B: das Material löste sich nach wenigen Sekunden durch das HealOzone™ auf)

4.2.4 Zur Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung

Da der Hersteller vor der Ozonbehandlung eine professionelle Zahnreinigung (PZR) empfiehlt, wurde auch der keimreduzierende Anteil der PZR kontrolliert. Wie unter Kap. 4.2.2 dargestellt wurde die mikrobiologische Kontrolle vor und nach PZR vorgenommen. Die professionelle Zahnreinigung erfolgte mit dem Gerät Prophyflex 2 (KaVo, Biberach); anschließend wurden die Okklusalfächen mit Okklubrush gereinigt (Abb. 11).

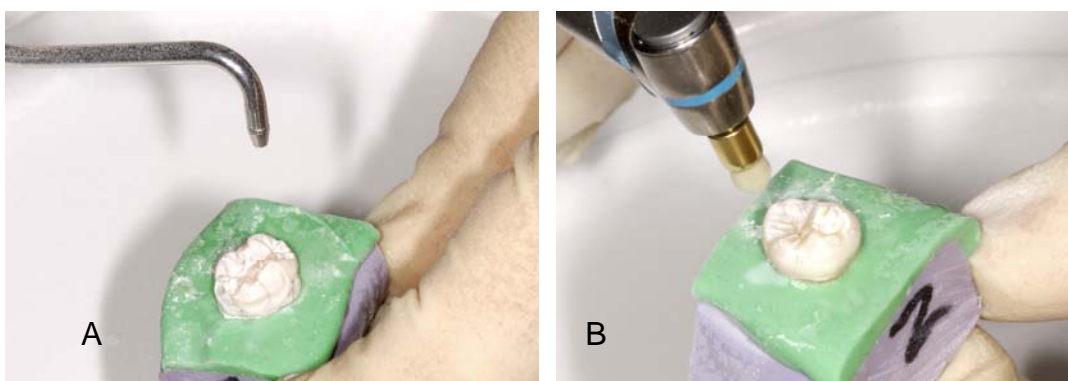


Abbildung 11: Professionelle Zahnreinigung mit Prophyflex 2 (KaVo, Biberach) (A) und Okklubrush (B)

4.2.5 Zur Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung und Ozonbehandlung

Im letzten Teil des ersten Studienabschnittes wurde der synergistisch keimreduzierende Effekt von vorausgegangener PZR (siehe Kap. 4.2.4) und anschließender HealOzone™-Behandlung geprüft. Unmittelbar nach der PZR wurde die Ozonbehandlung für 30, 60 und 90 sec vorgenommen und die Keimzahl auf den Okklusalfächen vor und nach der kombinierten Behandlung (siehe Kap. 4.2.2) überprüft.

4.3 Untersuchungen zur Effizienz von HealOzone™ zur Keimreduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am Kavitätenboden

4.3.1 Vorbereitung der Zähne

Im zweiten Teil der Studie wurden weitere 80 frisch extrahierte kariesfreie Molaren mit Klasse-I-Kavitäten versehen und in dünn fließendem und knetbarem Silikon (Flexitime, Fa. Heraeus/Kulzer) eingebettet. Die Molaren wurden in einer feuchten Kammer im Autoklav (Varioklav Dampfsterilisator Typ 500, Oberschleißheim) bei 121°C für 15 Minuten autoklaviert und nach dem Abkühlen jeweils mit 0,05 ml einer 24- (Streptokokken) bzw. 48-Stunden-Kultur (Laktobazillen und Aktinomyzeten) ausgewählter Referenzstämme (Tab. 2, Tab. 5) beimpft.

Tabelle 5: Anzahl der mit HealOzone™ zu behandelnden Molaren bei unterschiedlicher Behandlungszeit

| Behandlungszeit | Anzahl der Molaren | |
|----------------------------|--------------------|-----------|
| | 20 sec | 40 sec |
| Teststämme | | |
| Streptokokken | 18 | 11 |
| S. mutans | 6 | 3 |
| S. sobrinus | 6 | 6 |
| S. sanguinis | 6 | 2 |
| Laktobazillen | 12 | 15 |
| Lactobacillus casei | 3 | 6 |
| Lactobacillus plantarum | 6 | 6 |
| Lactobacillus coryniformis | 3 | 3 |
| Aktinomyzeten | 12 | 12 |
| Actinomyces naeslundii | 3 | 3 |
| Actinomyces naeslundii | 6 | 3 |
| Actinomyces denticola | 3 | 6 |

Die Keimzahlen der zur Inokulation verwendeten Bakteriensuspensionen wurden parallel bestimmt. Je 0,1 ml der Stammsuspensionen wurden in 1 ml NaCl überführt und in Zehnerstufen bis zu 10^{-6} verdünnt. Entsprechend der Referenzstämme (Tab. 2) wurden je 0,1 ml auf Mitis-salivarius-Agar mit (Mutans-Streptokokken) und ohne Bacitracin (Gold et al. 1973, Difco) (Streptokokken), auf Rogosaagar (Difco, Laktobazillen) sowie auf Hirn-Herz-Blutagar (Difco, Aktinomyzeten) ausgespatelt und wie unter Kapitel 4.2.2 weiter bearbeitet.

4.3.2 Zur Effizienz von HealOzone™ zur Keimreduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am Kavitätenboden

Die Molaren wurden nach Inokulation in einer feuchten Kammer bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ für 24 (Streptokokken) bis 48 Stunden (Laktobazillen, Aktinomyzeten) anaerob inkubiert (Anaerobierbrutschrank VT 5042EK/N2, Heraeus Instruments Hanau, Deutschland). Im Anschluss daran wurde in der Werkbank (Heraeus Lamin Air, HBB 2448, Hanau, Deutschland) eine subjektiv gleiche Menge Dentinspäne durch 3-malige Entnahme mit einem Exkavator (Exkavator DC27 1R, Aesculap) in Anlehnung an Kneist und Heinrich-Weltzien (2002) vom Kavitätenboden zur mikrobiologischen Kontrolle entnommen (Abb. 12).

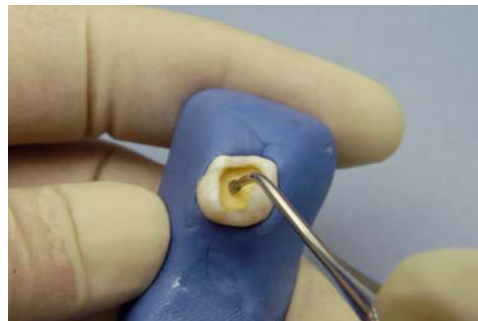


Abbildung 12: Standardisierte Probeentnahme mit Hilfe eines sterilen Exkavators (Exkavator DC27 1R Aesculap)

Die Dentinspäne wurden in 1 ml NaCl überführt, in Zehnerstufen bis zu 10^{-6} verdünnt und – wie im Kap. 4.2.2 dargestellt – mikrobiologisch aufgearbeitet. Danach erfolgte die Ozonapplikation auf den Kavitätenboden; als Applikationszeiten wurden 20 und 40 Sekunden nach Empfehlungen des Herstellers erprobt (Abb. 13).



Abbildung 13: Ozonapplikation auf den Kavitätenboden (HealOzone™ 3, Typ 2130 C, KaVo, Biberach)

Die Funktionstüchtigkeit des Gerätes wurde durch Behandlung von Latex (Einweghandschuhe) vor und nach jeder Untersuchungsserie kontrolliert (Abb. 10). Nach der Ozonbehandlung wurde unter den gleichen standardisierten Bedingungen eine Probeentnahme vom Kavitätenboden vorgenommen. Die Dentinspäne wurden wie oben angeführt (Kap. 4.2.2) mikrobiologisch bei Verwendung der adäquaten Kulturmedien (Kap. 4.3.1) aufgearbeitet.

4.4 Rasterelektronenmikroskopische Betrachtung inokulierter Okklusalfächen und Kavitätenböden

In einem Stichprobenumfang von je zwei bis drei inokulierten Okklusalfächen (Mutans-Streptokokken, $n = 3$) und Kavitätenböden (Streptokokken, $n = 3$; Laktobazillen, $n = 3$; Aktinomyzeten, $n = 3$) wurde der Erfolg der Keimetablierung makroskopisch betrachtet.

Die Zähne wurden nach der Inokulation und Bebrütung in 2,5%igem Glutaraldehyd 30 Minuten fixiert und nachfolgend dreimal je 30 Minuten in Cacodylatpuffer passagiert. Anschließend wurden die Zähne in einer aufsteigenden Alkoholreihe (30%, 50%, 70%) jeweils 30 bis 60 Minuten entwässert und im Exsikkator gelagert.

Die Zahnkronen und -wurzeln wurden im Bereich der Schmelz-Zementgrenze voneinander getrennt; zusätzlich wurde eine Zahnkrone mit einer diamantierten Trennscheibe (204 DSB; Komet, Gebr. Brasseler GmbH & Co. KG, Lemgo, Deutschland) seitlich von koronal bis apikal ca. 1 mm tief eingeritzt. Mit einem Locrone-Instrument erfolgte die Längsspaltung.

Die Zahnkronen und Zahnkronenhälften wurden anschließend mit einer Goldschicht von 25 – 30 nm bedampft (Sputter Coater BAL-TEC SCD 005, BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein) und im Rasterelektronenmikroskop LEO 1450 VP (Leo Elektronenmikroskopie GmbH, Oberkochen, Deutschland) im Bereich der Okklusalfächen bzw.

Kavitätenböden betrachtet. Zur Dokumentation wurden eine Übersichtsaufnahme und drei Aufnahmen bei jeweils 100-, 200- und 500-facher Vergrößerung angefertigt.

4.5 Statistische Bewertung der Befunde

Die Keimzahlbestimmung erfolgte von geeigneten Verdünnungsstufen pro ml (ca. 100 bis 150 Kolonien) und subjektiv gleichem Pinselabstrich bzw. subjektiv gleicher Dentinprobe. Die CFU pro ml wurde als dekadischer Logarithmus ausgedrückt, Mittelwerte (\bar{x}) und Standardabweichungen (SD) wurden berechnet.

Die Effizienz der Keimreduktionen auf den Okklusalfächen bzw. Kavitätenböden nach den ausgewählten Behandlungsverfahren und -zeiten (Placebo, HealOzone™, PZR, PZR/HealOzone™) wurde mit dem Paardifferenztest für abhängige Stichproben berechnet (Softwarepaket SPSS, Version 13.0); das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha = 0,05$ festgelegt.

5 Ergebnisse

5.1 Zur Keimreduktion auf Okklusalfächen durch HealOzone™

Für die In-vitro-Untersuchungen zur Keimreduktion auf den Okklusalfächen wurden 120 frisch extrahierte Molaren mit höckeriger Anatomie und tiefen Fissuren (Tab. 3, Abb. 5) einbezogen, die einer 30, 60 und 90 Sekunden dauernden Ozonbehandlung unterzogen wurden (Tab. 4). In Voruntersuchungen konnte die Entnahmetechnik mit einem Einwegpinsel hinsichtlich ihrer Eignung und Reproduzierbarkeit bestätigt werden (Abb. 9).

Abbildung 14 zeigt eine mit *S. mutans* NCTC 10449 inokulierte Okklusalfäche im rasterelektronenmikroskopischen Bild.

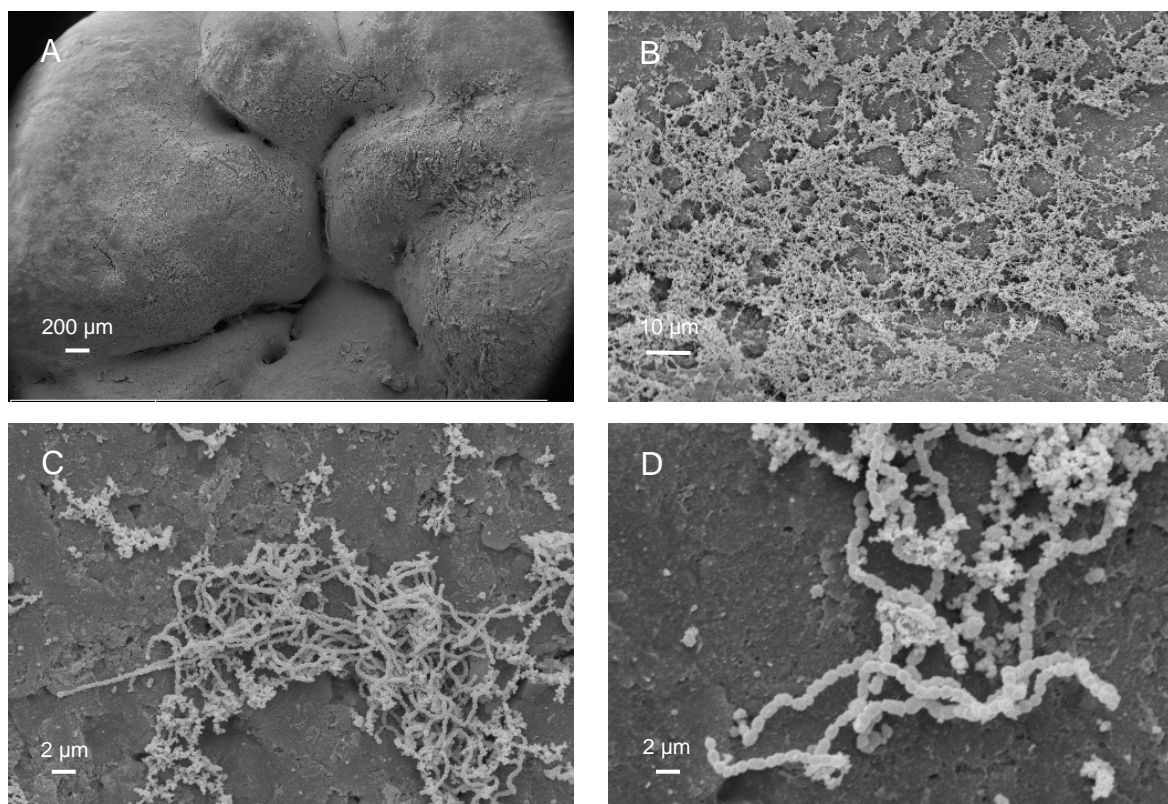


Abbildung 14: Mit *S. mutans* NCTC 10449 inokulierte Okklusalfäche im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 200fach, D = 500fach)

Von den 120 in die Untersuchung einbezogenen Molaren konnte mit Impfsuspensionen von *S. mutans* NCTC 10449 mit einer CFU von $\log 7.2502 \pm 0.3379$ ($\sim 1,8 \times 10^7$) eine Keimzahl von 2.2373 ± 1.7602 ($\sim 1,5 \times 10^2$) auf den Okklusalfächen vor den jeweiligen Behandlungen etabliert werden (Abb. 15).

Die abschließende Spülung des Gerätes nach HealOzone™-Applikation führte zu keiner weiteren Veränderung der Keimzahlen (Abb. 16).

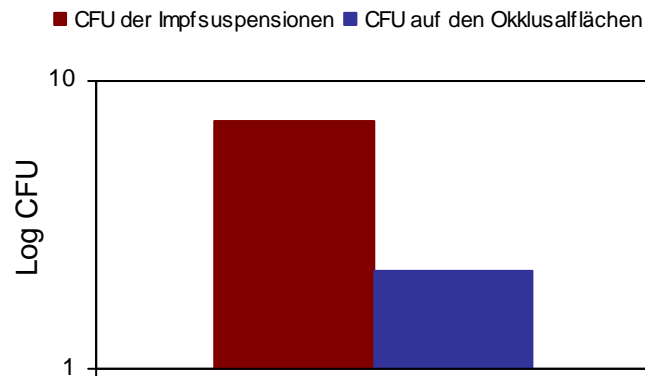


Abbildung 15: Log CFU der Impfsuspensionen ($n = 15$, $\log 7.2502 \pm 0.3379$) von *S. mutans* NCTC 10449 und etablierte Keimzahlen auf den Okklusalfächen ($n = 120$) vor den jeweiligen Behandlungen ($\log 2.2373 \pm 1.7602$)

5.1.1 Zur Effizienz von HealOzone™ nach 30 Sekunden Behandlungszeit

Nach einer Behandlung von 30 Sekunden mit HealOzone™ konnte keine Reduktion der Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf den Okklusalfächen erreicht werden; die Keimzahlen waren tendenziell sogar erhöht ($p = 0,562$ ns). Die Placebo-Behandlung führte ebenso zu keiner signifikanten Veränderung der mittleren Keimzahl von *S. mutans* NCTC 10449 ($p = 0,670$ ns). Auch nach PZR/HealOzone™-Behandlung waren die Keimzahlen unverändert ($p = 0,716$ ns). Die PZR allein führte dagegen zu einer signifikanten Keimzahlreduktion ($p = 0,004$ s) (Abb. 16, Anhang Tab. 1).

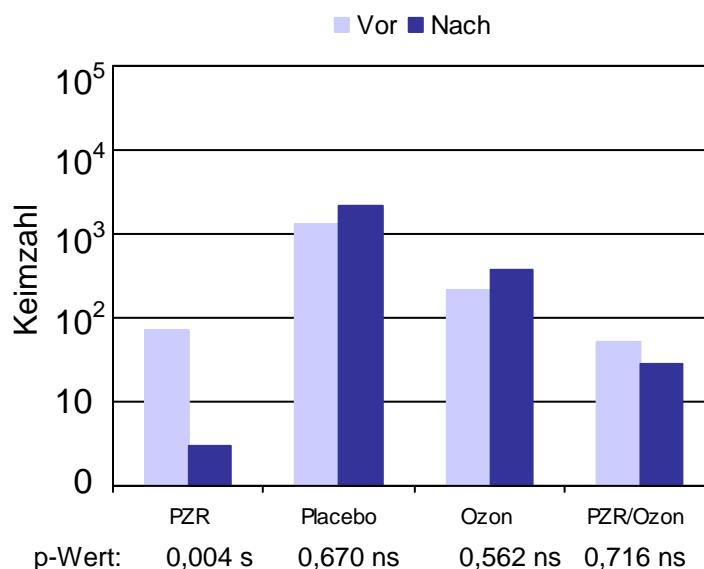


Abbildung 16: Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 30 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung von jeweils 12 Okklusalfächen

5.1.2 Zur Effizienz von HealOzone™ nach 60 Sekunden Behandlungszeit

Nach einer Behandlung von 60 Sekunden konnte auf den Okklusalfächen der Molaren nach HealOzone™-, Placebo- und PZR/HealOzone™-Behandlung weder eine Reduktion noch eine Erhöhung der Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 nachgewiesen werden ($p = 0,446$ ns, $p = 0,079$ ns, $p = 0,336$ ns) (Abb. 17, Anhang Tab. 2).

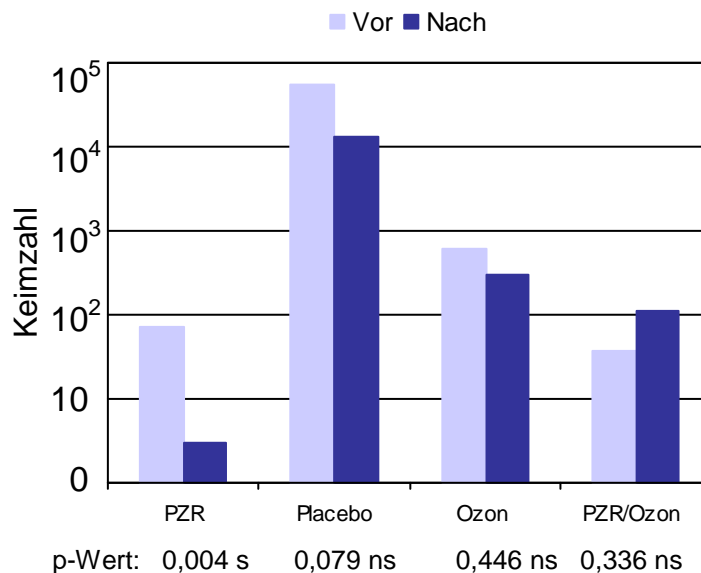


Abbildung 17: Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 60 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung von jeweils 12 Okklusalfächen

5.1.3 Zur Effizienz von HealOzone™ nach 90 Sekunden Behandlungszeit

Nach einer Behandlung von 90 Sekunden konnte auf den Okklusalfächen der Molaren nach HealOzone™- ($p = 0,263$ ns) und Placebobehandlung ($p = 0,442$ ns) weder eine Reduktion noch eine Erhöhung der Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 nachgewiesen werden. Die Kombination einer PZR/HealOzone™-Behandlung führte dagegen zu einer signifikanten Keimreduktion ($p = 0,000$ s) (Abb. 18, Anhang Tab. 3).

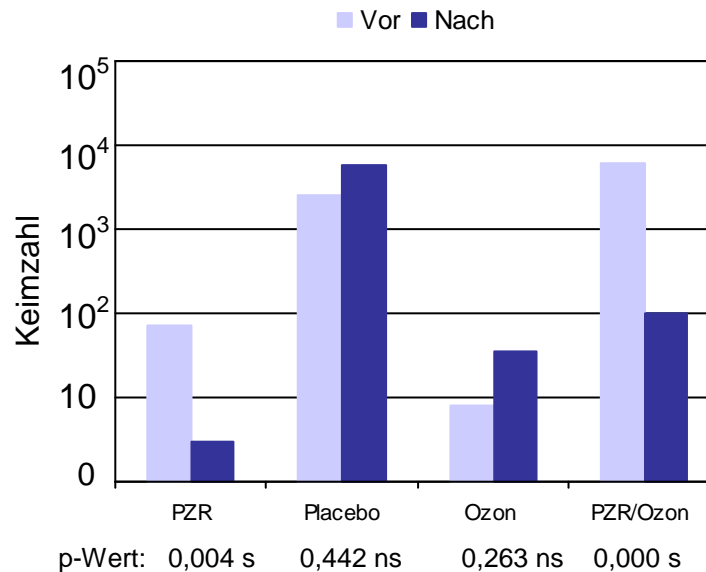


Abbildung 18: Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 90 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung von jeweils 12 Okklusalfächen

5.2 Zur Effizienz einer HealOzone™-Behandlung am Kavitätenboden

Am Kavitätenboden wurde der Frage nachgegangen, ob eine HealOzone™-Behandlung die Reduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten nach Kariesexkavation am Kavitätenboden synergistisch unterstützt. Je 3 Referenzstämme pro Gattung wurden in die Untersuchungen einbezogen. Pro Stamm wurden 2 bis 6 Molaren untersucht, so dass die Ergebnisse auf der Untersuchung von insgesamt 80 Molaren basieren (Tab. 5). 42 Molaren wurden einer Ozonapplikation von 20 Sekunden unterzogen und 38 Molaren einer Applikationszeit von 40 Sekunden.

5.2.1 Zur Keimreduktion von Streptokokken am Kavitätenboden nach HealOzone™ - Behandlung

Für die Streptokokken wurde ein Inokulum mit einer mittleren Keimzahlhöhe von $1,0 \times 10^6$ pro ml eingesetzt. Abbildung 19 zeigt einen Kavitätenboden, der mit *S. mutans* NCTC 10449 inokuliert wurde. Nach der Bebrütung konnten im Mittel $1,5 \times 10^3$ Keime auf den Kavitätenböden nachgewiesen werden (Abb. 20).

In den Abbildungen 21, 22 und 23 sind die Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449, *S. sobrinus* OMZ 176 und *S. sanguinis* 9S vor und nach 20 und 40 Sekunden Ozonbehandlung dargestellt. Die Anhangstabellen 4 und 5 enthalten die Einzelbefunde.

Für die Streptokokken konnte eine signifikante Reduktion nachgewiesen werden, die im Mittel sowohl nach 20 ($p = 0.048$) als auch nach 40 Sekunden ($p = 0.037$) Ozonbehandlung in einer Größenordnung von einer Zehnerpotenz vorlag (Abb. 24).

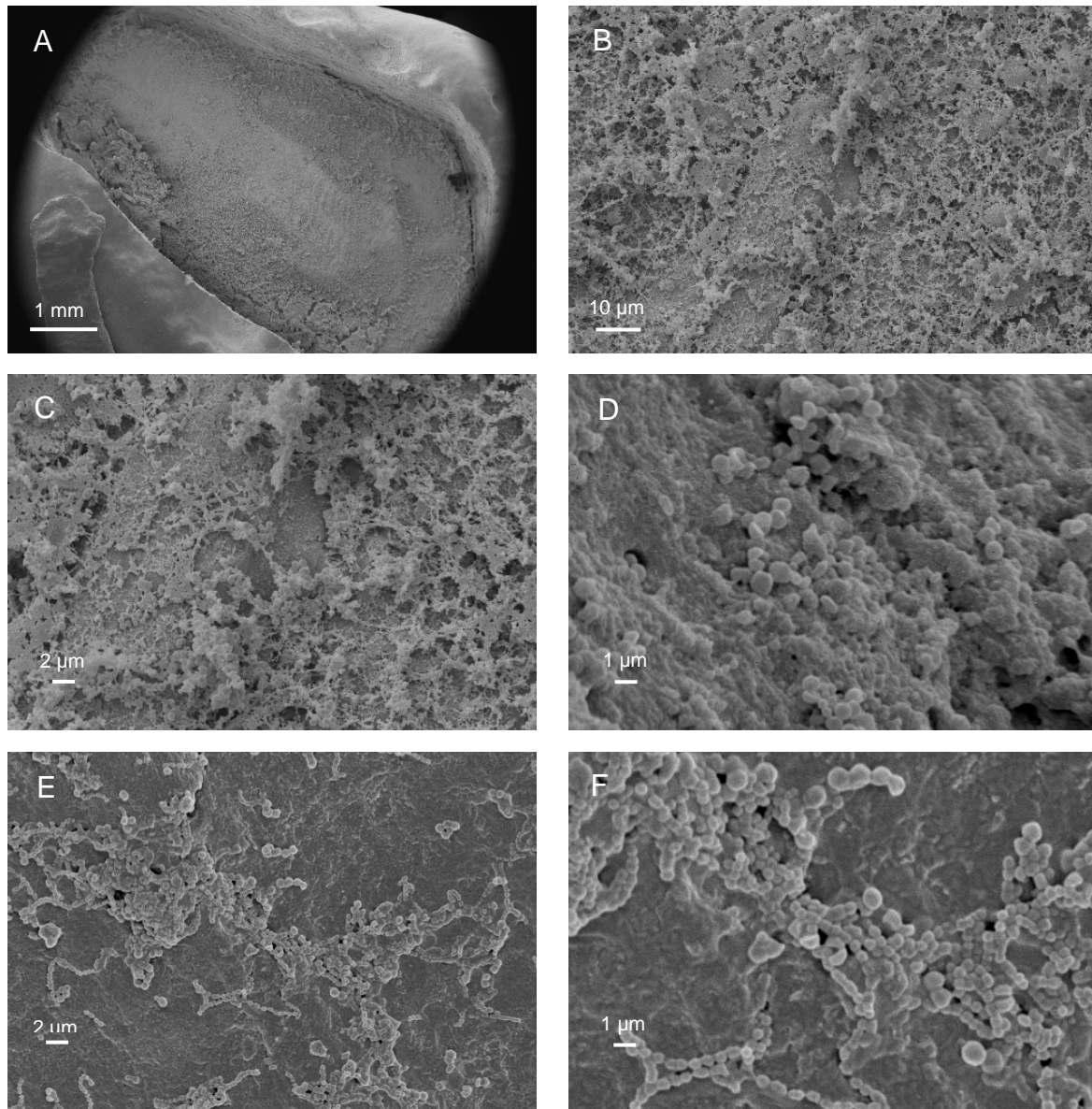


Abbildung 19: Mit *S. mutans* NCTC 10449 inokulierter Kavitätenboden im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 200fach, D = 500fach, E = 200fach, F = 500fach)

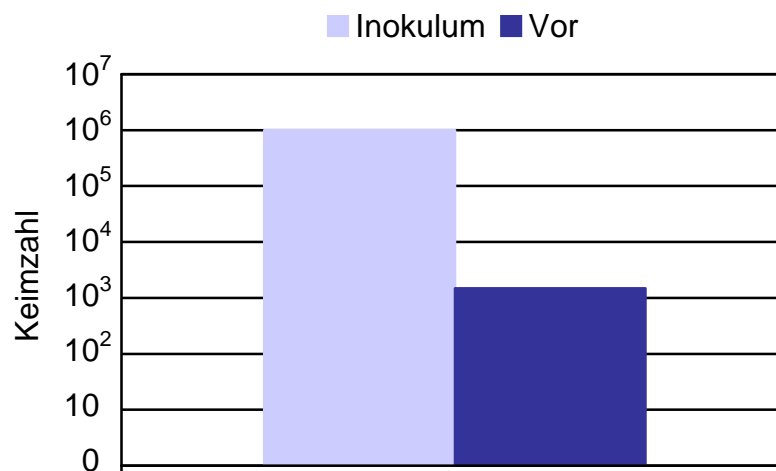


Abbildung 20: Mittlere Keimzahl von Streptokokken (1×10^6) pro ml Impfsuspension ($n = 13$) und etablierte mittlere Keimzahl ($1,5 \times 10^3$) auf den Kavitätenböden ($n = 29$)

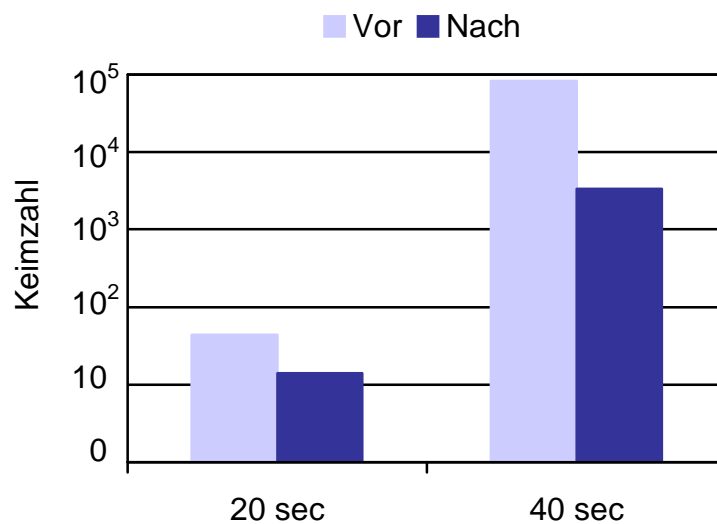


Abbildung 21: Keimreduktion von *S. mutans* NCTC 10449 nach 20 ($n = 6$) und 40 Sekunden ($n = 3$) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

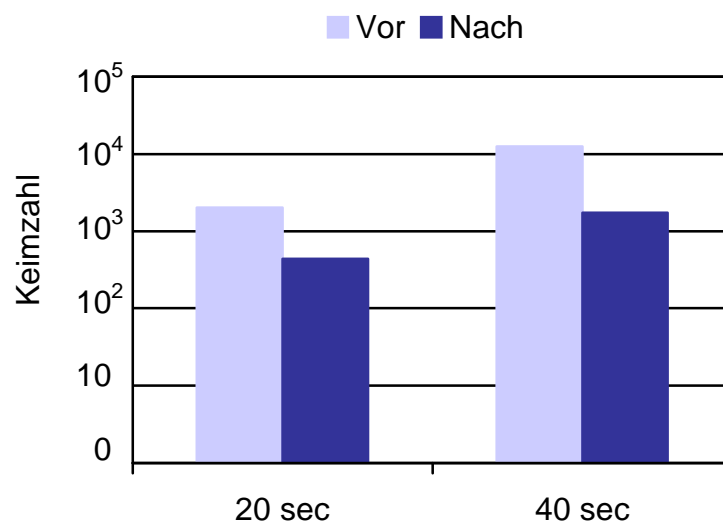


Abbildung 22: Keimreduktion von *S. sobrinus* OMZ 176 nach 20 ($n = 6$) und 40 Sekunden ($n = 6$) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

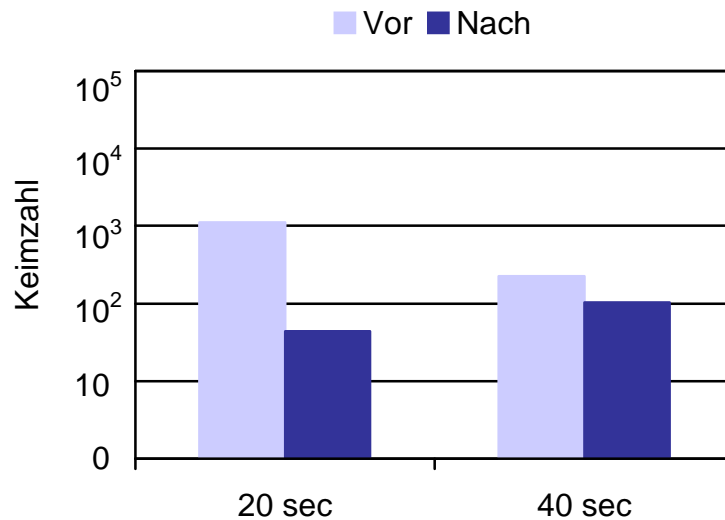


Abbildung 23: Keimreduktion von *S. sanguinis* 9S nach 20 (n = 6) und 40 Sekunden (n = 2) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

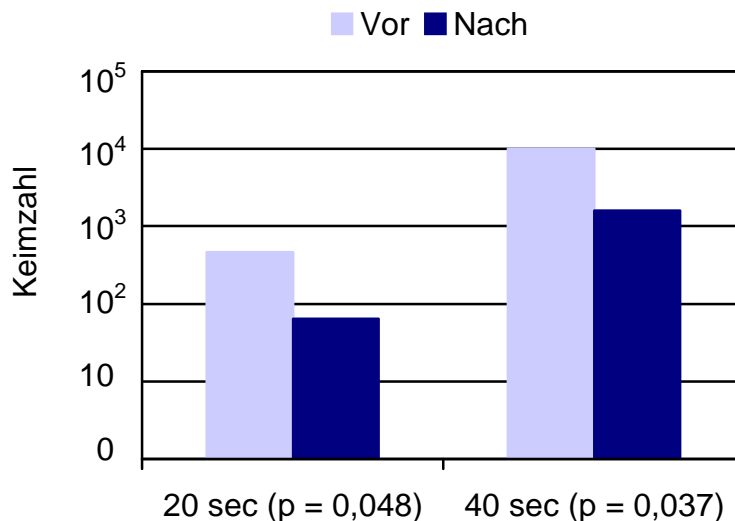


Abbildung 24: Keimreduktion von Streptokokken (*S. mutans* NCTC 10449, *S. sobrinus* OMZ 176, *S. sanguinis* 9S) nach 20 (n = 18) und 40 Sekunden (n = 11) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

5.2.2 Zur Keimreduktion von Laktobazillen am Kavitätenboden nach HealOzone™ - Behandlung

Abbildung 25 zeigt einen Kavitätenboden, der mit *Lactobacillus plantarum* DSMZ 2601 inokuliert wurde. Zur Etablierung der Laktobazillen an den Kavitätenböden wurde ein Inokulum mit einer mittleren Keimzahlhöhe von 15×10^6 pro ml eingesetzt. Nach der Bebrütung konnten im Mittel $7,8 \times 10^3$ Laktobazillen auf den Kavitätenböden nachgewiesen werden (Abb. 26).

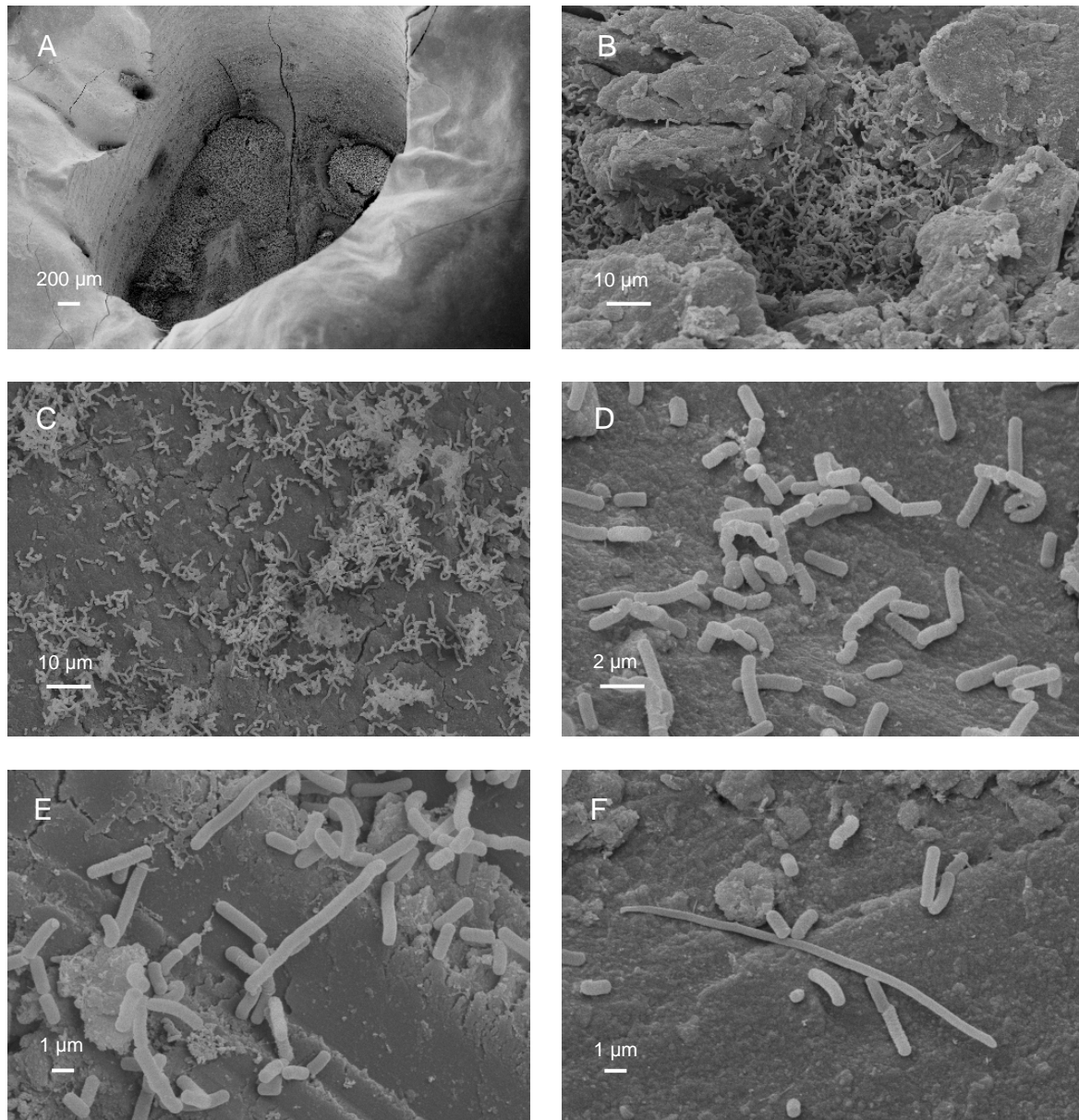


Abbildung 25: Mit *Lactobacillus plantarum* DSMZ 2601 inokulierter Kavitätenboden im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 100fach, D = 500fach, E = 500fach, F = 500fach)

In den Abbildungen 27, 28 und 29 sind die Keimzahlen von *L. casei* IMET 10692, *L. plantarum* DSMZ 2601 und *L. coryniformis* DSMZ 20001 nach 20 und 40 Sekunden Ozonbehandlung dargestellt und in den Anhangstabellen 6 und 7 die Einzelbefunde.

Für die Laktobazillen konnte eine signifikante Reduktion nachgewiesen werden, die im Mittel sowohl nach 20 ($p = 0,000$) als auch 40 Sekunden ($p = 0,002$) Ozonbehandlung in einer Größenordnung von einer Zehnerpotenz vorlag (Abb. 30).

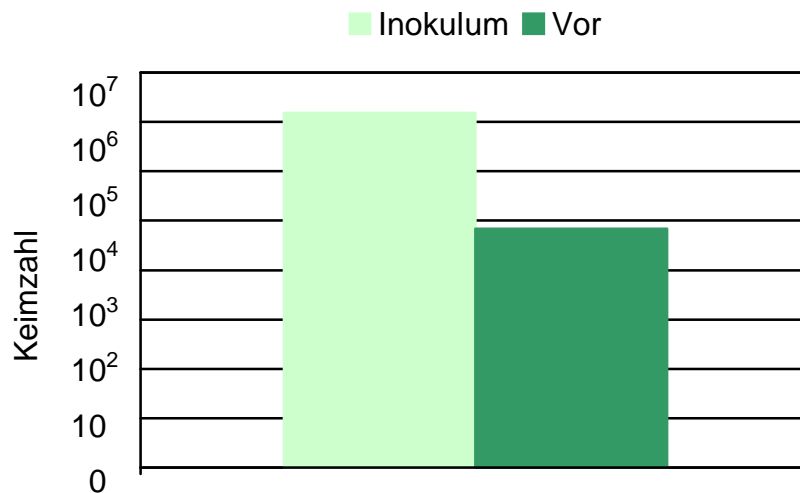


Abbildung 26: Mittlere Keimzahl von Laktobazillen (15×10^6) pro ml Impfsuspension ($n = 9$) und etablierte mittlere Keimzahl ($7,8 \times 10^3$) der Kavitätenböden ($n = 27$)

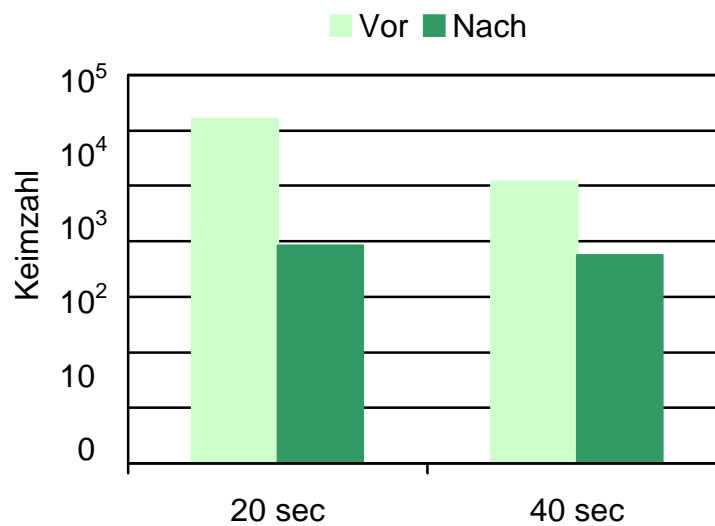


Abbildung 27: Keimreduktion von *L. casei* IMET 10692 nach 20 ($n = 3$) und 40 Sekunden ($n = 6$) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

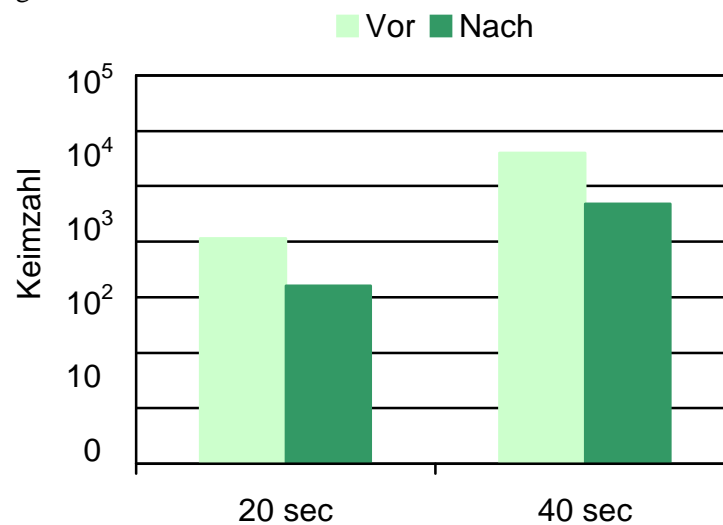


Abbildung 28: Keimreduktion von *L. plantarum* DSMZ 2601 nach 20 ($n = 6$) und 40 Sekunden ($n = 6$) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

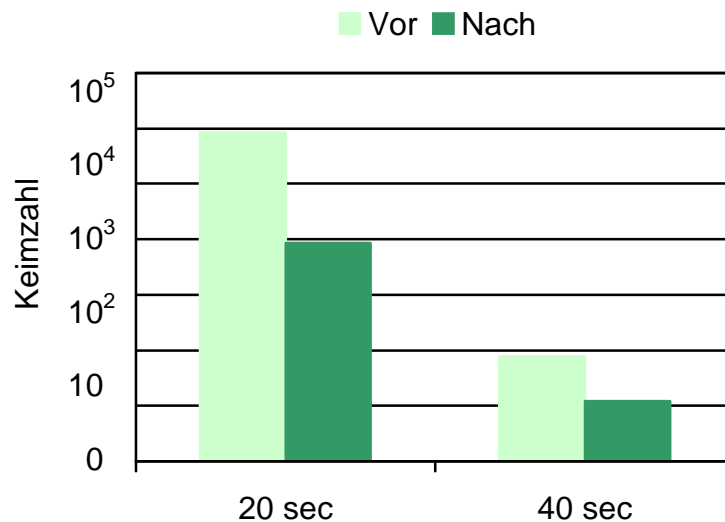


Abbildung 29: Keimreduktion von *L. coryniformis* DSMZ 20001 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 3) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

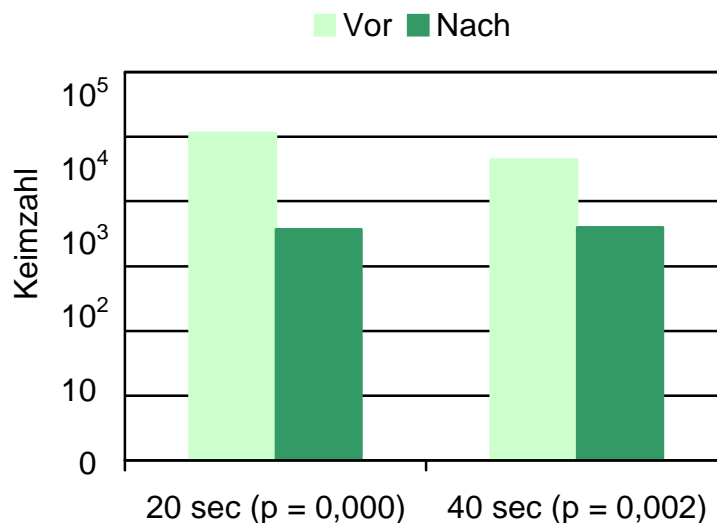


Abbildung 30: Keimreduktion von Laktobazillen (*L. casei* IMET 10692, *L. plantarum* DSMZ 2601 und *L. coryniformis* DSMZ 20001) nach 20 (n = 12) und 40 Sekunden (n = 15) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

5.2.3 Zur Keimreduktion von Aktinomyzeten am Kavitätenboden nach HealOzone™ - Behandlung

Zur Etablierung der Aktinomyzeten an den Kavitätenböden wurde ein Inokulum mit einer mittleren Keimzahlhöhe von 7×10^6 pro ml eingesetzt. Abbildung 31 zeigt einen Kavitätenboden, der mit *A. denticola* NCTC 11490 inokuliert wurde. Nach der Bebrütung konnten im Mittel $10,7 \times 10^3$ Keime auf den Kavitätenböden nachgewiesen werden (Abb. 32).

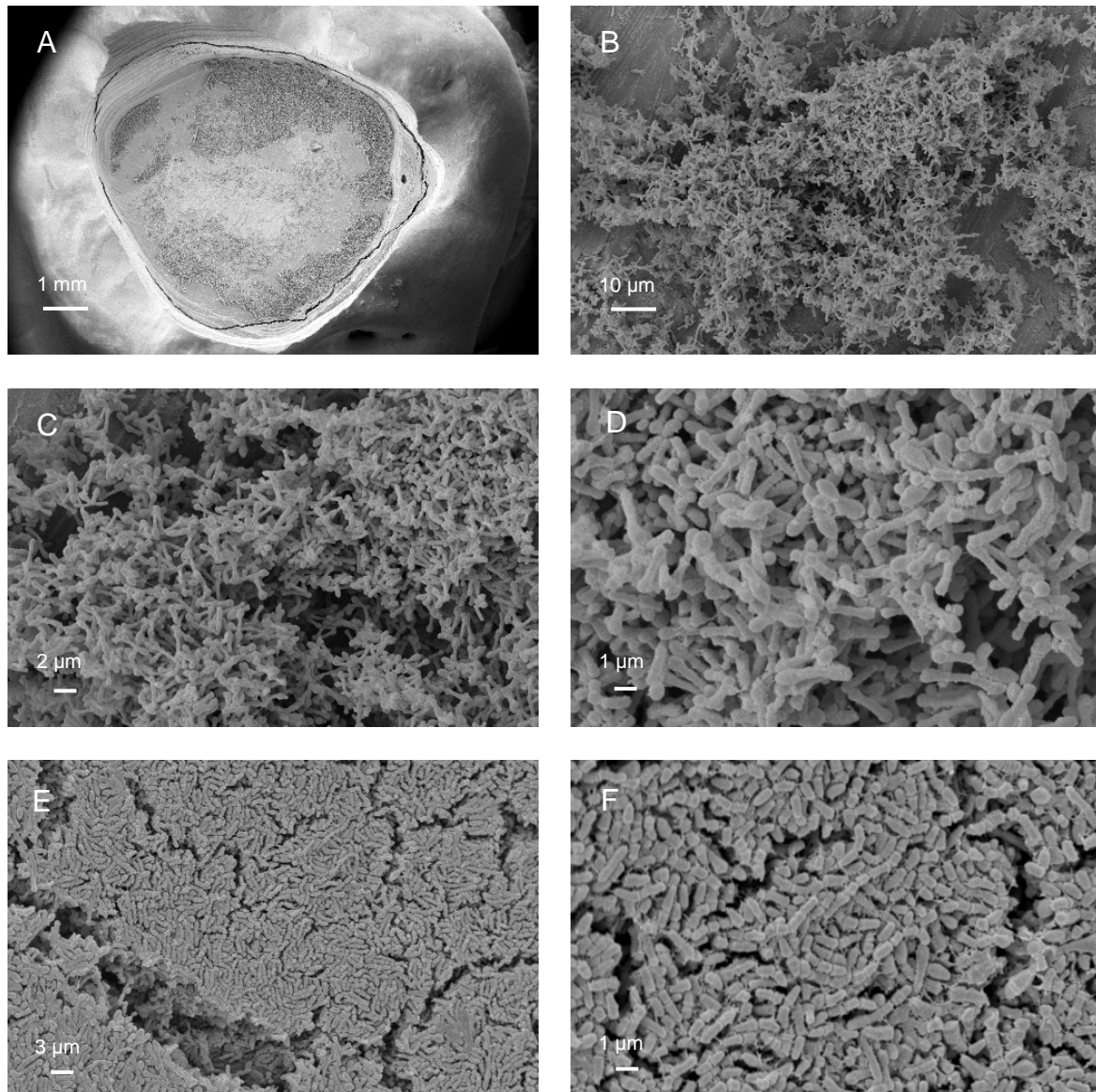


Abbildung 31: Mit *A. denticola* NCTC 11490 inokulierter Kavitätenboden im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 12fach, B = 100fach, C = 200fach, D = 500fach, E = 200fach, F = 500fach)

In den Abbildungen 33, 34 und 35 sind die mittleren Keimzahlen von *A. naeslundii* ATCC 27044, *A. naeslundii* DSMZ 43760, *A. denticola* NCTC 11490 und nach 20 und 40 Sekunden Ozonbehandlung dargestellt. Die Einzelbefunde sind in den Anhangstabellen 8 und 9 enthalten.

Eine signifikante Keimreduktion der Aktinomyzeten konnte sowohl nach einer 20 ($p = 0,006$) als auch nach einer 40 Sekunden ($p = 0,003$) Ozonapplikation nachgewiesen werden, die im Mittel in einer Größenordnung von ein bis zwei Zehnerpotenzen lag (Abb. 36).

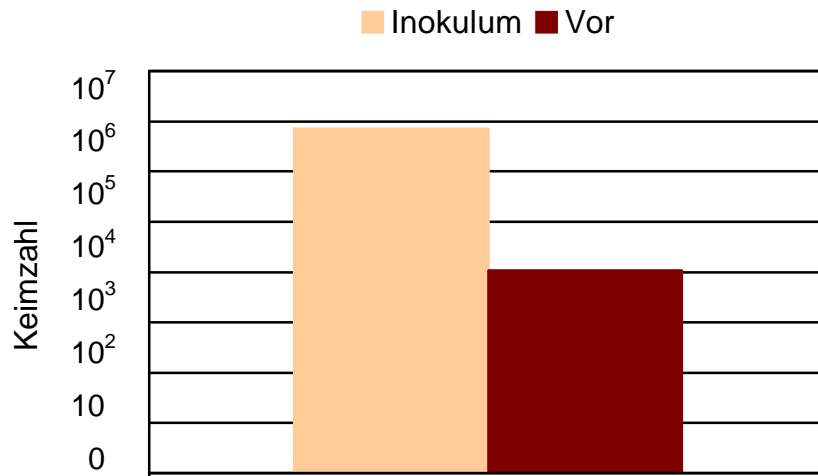


Abbildung 32: Mittlere Keimzahl von Aktinomyzeten (7×10^6) pro ml Impfsuspension ($n = 24$) und etablierte mittlerer Keimzahl ($10,7 \times 10^3$) an den Kavitätenböden ($n = 24$)

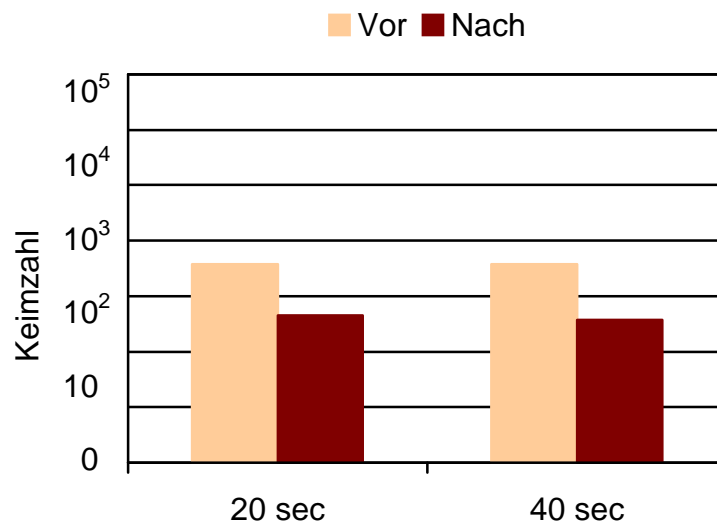


Abbildung 33: Keimreduktion von *A. naeslundii* ATCC 27044 nach 20 ($n = 6$) und 40 Sekunden ($n = 3$) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

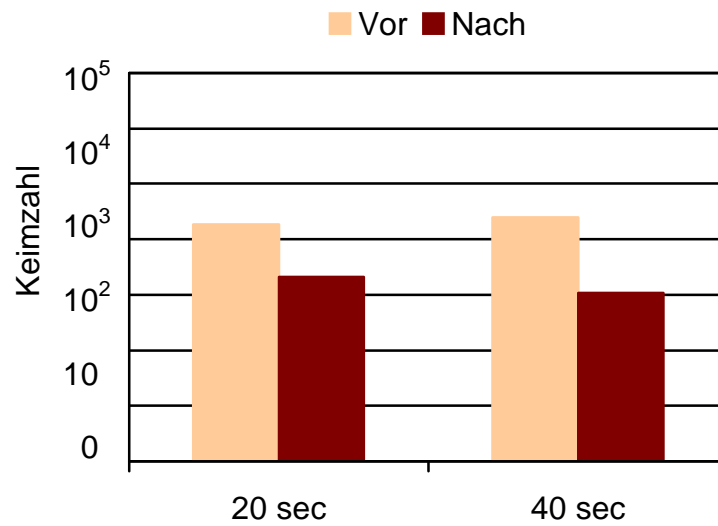


Abbildung 34: Keimreduktion von *A. denticola* NCTC 11490 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 6) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

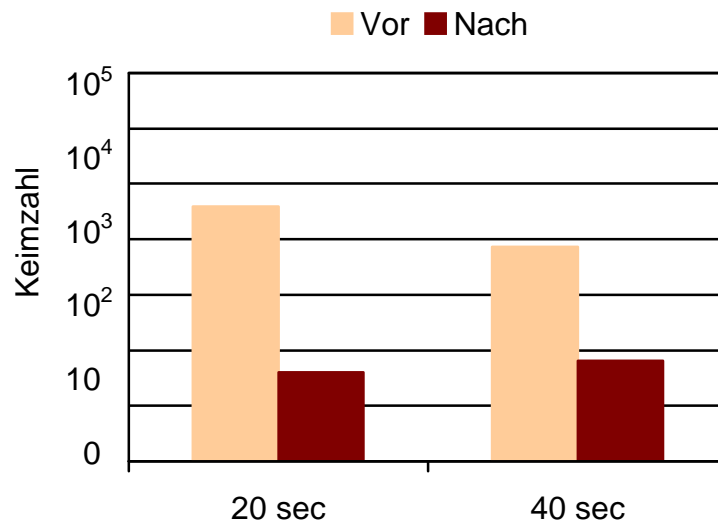


Abbildung 35: Keimreduktion von *A. naeslundii* DSMZ 43760 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 3) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

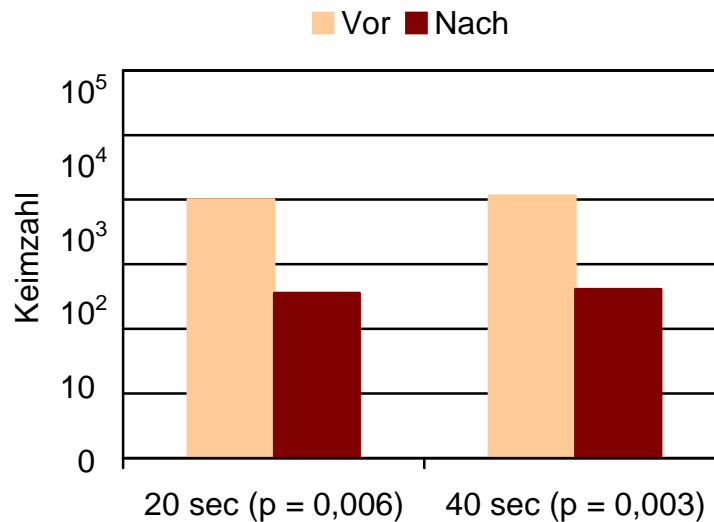


Abbildung 36: Keimreduktion von *A. naeslundii* ATCC 27044, *A. denticola* NCTC 11490 und *A. naeslundii* DSMZ 43760 nach 20 (n = 12) und 40 (n = 12) Sekunden Ozonbehandlung am Kavitätenboden

5.3 Synoptik der Befunde

In einem In-vitro-Modell mit 120 kariesfreien Molaren mit tiefem okklusalem Retentionsmuster und ausgeprägter Morphologie konnte bei Bildung von 4 homogenen experimentellen Gruppen nach professioneller Zahnreinigung (Prophyflex 2, KaVo GmbH), Ozonbehandlung (HealOzone™ Typ 2130 C, KaVo GmbH), Ozon-Placebo-Behandlung (HealOzone™ Typ 2130 C, Placebo, KaVo GmbH) und professioneller Zahnreinigung/Ozonbehandlung auf den zuvor mit *S. mutans* NCTC 10449 inokulierten Okklusalfächen nach professioneller Zahnreinigung eine Keimreduktion nachgewiesen werden. Eine Kombination von professioneller Zahnreinigung und Ozonbehandlung über 90 sec führte zu einer Reduktion von *S. mutans* NCTC 10449 auf den okklusalen Zahnflächen um etwa 2 Zehnerpotenzen, wobei die synergistische Keimreduktion aus den tiefen Fissuren nicht exakt mit einer Keimzahl belegt werden kann; insgesamt dürfte aber die Reduktion in einer Höhe von 10⁴ gelegen haben (10² CFU von der Okklusalfäche und 10² CFU aus der Fissur).

Weiterhin wurden für ein In-vitro-Kavitätenmodell 80 Molaren mit subjektiv gleich großen Klasse-I-Kavitäten versehen. 9 Kavitätenböden wurden unter standardisierten Bedingungen mit *S. mutans* NCTC 10449 inokuliert, 12 Kavitätenböden mit *S. sobrinus* OMZ 176 und 8 Kavitätenböden mit *S. sanguinis* OMZ 9S. 9 weitere Kavitätenböden waren mit *L. casei* IMET 10692 inokuliert, 12 mit *L. plantarum* DSMZ 2601 und 3 mit *L. coryniformis* DSMZ 20001. Von den übrigen Kavitäten wurde in 6 *A. naeslundii* DSMZ 43760 und in je

9 *A. naeslundii* ATCC 27044 und *A. denticola* NCTC 11490 etabliert. Eine 20 bzw. 40 Sekunden andauernde Ozonbehandlung wurde überprüft.

Von den mit Streptokokken inokulierten Kavitätenböden konnte vor der Ozonbehandlung eine mittlere CFU von $1,5 \times 10^3$ etabliert werden. Es wurde eine signifikante Streptokokkenreduktion nach 20 Sekunden und 40 Sekunden Ozonbehandlung nachgewiesen, die in einer Größenordnung von einer Zehnerpotenz vorlag.

In den mit Laktobazillen inokulierten Kavitätenböden konnte vor der Ozonbehandlung eine mittlere CFU von $7,8 \times 10^3$ etabliert werden. Laktobazillenreduktion konnte nachgewiesen werden. Eine signifikante Reduktion der Keimzahlen lag sowohl nach 20 als auch nach 40 Sekunden langer Ozonapplikation in einer Größenordnung von einer Zehnerpotenz vor.

Auch die mit einer mittleren CFU von $10,7 \times 10^3$ etablierten Aktinomyzeten konnten in ihrer Keimzahl nach 20 und 40 Sekunden Ozonapplikation reduziert werden. Die Keimreduktion lag im Mittel in einer Größenordnung von ein bis zwei Zehnerpotenzen.

6 Diskussion

Ozon hat eine lange Geschichte in Forschung und Medizin. Seit etwa einem halben Jahrhundert werden therapeutische Anwendungen klinisch erprobt (Santoro et al. 2005). Die Einführung des Ozons in der Zahnmedizin ist mit dem Namen Fisch (1936 a, b) eng verbunden. Der Züricher Zahnarzt war schon in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts davon überzeugt, dass eine Ozontherapie Erfolg versprechend sei und an eine einfache Apparatur gebunden ist, die möglichst reines und an atomarem Sauerstoff reiches Ozongas direkt auf das kranke Gewebe appliziert. Fisch (1936 a, b) konstruierte dazu ein Gerät, das er als „Cytozon“ (Abb. 37) bezeichnete und mit dem er erste Behandlungen durchführte.

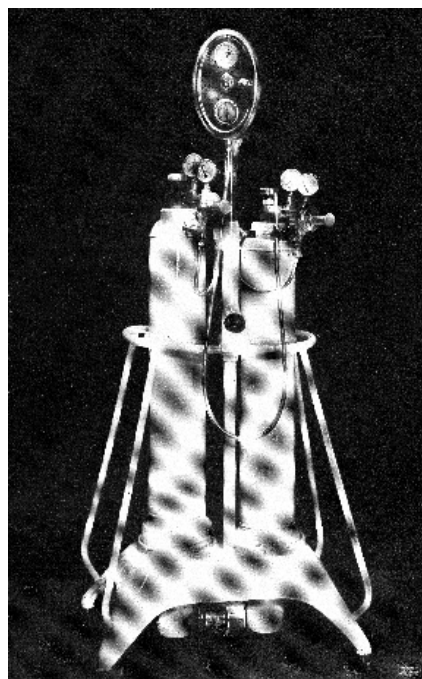


Abbildung 37: Das Ozongerät „Cytozon“ nach Fisch (1936)

Der Apparat wurde in einer gedungenen, zweckmäßigen Form gebaut und an Sauerstoff-Applikatoren angeschlossen. Das „Cytozon“ lieferte einen $O_3 + O_2$ Gasstrom, der sehr leicht verändert und reguliert werden konnte. Die abgegebene Gasmischung hatte eine Ozonkonzentration zwischen 0,005% und 4%. Die therapeutisch geeigneten Konzentrationen lagen zwischen 0,6% und 4% Ozon. Der Gasfluss pro Sekunde lag bei $0,005 \text{ cm}^3$ und mehr, je nachdem ob Insufflation, Persufflation oder Injektionen angewandt wurden. Bei der Applikation wurde eine Absaugvorrichtung in Betrieb gesetzt, die das zurückströmende Gas entfernte. Über den zu behandelnden Zahn wurde eine metallische Glocke gestülpt, die durch einen Ansatz mit dem Handstück und einem ozonbeständigem Schlauch verbunden wurde (Fisch 1936 a, b). Gummischläuche oder Verbindungsstücke aus Gummi mussten vermieden

werden, da sie in kürzester Zeit durch den Gasstrom zerfielen, so dass Bruchstücke in den behandelten Geweben zurück bleiben konnten. Der Latextest wird deshalb noch heute als schnelle Kontrolle zur Funktionstüchtigkeit von Ozongeräten eingesetzt. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde der Latextest zur Kontrolle der Funktionstüchtigkeit des Gerätes mitgeführt (Abb. 9). Aus Ozon und Kautschuk entstanden darüber hinaus Ozonide, die zwar gewebefreundlich waren aber auch zu photochemischen Reaktionen führten (Bär 1935). Die Apparatur von Fisch (1936 a, b) wurde dann von der Gesellschaft für Elektro-Therapie, Stuttgart-Untertürkheim, produziert (Lehne 1939). Dem Ozonstrom aus dem „Cytozon“ wurde eine gute bakterizide Wirkung in der klinischen Anwendung wie auch im mikrobiologischen Experiment bestätigt (Fisch 1936 a, b).

Ein weiterer Apparat zur Erzeugung eines Ozon-Sauerstoffgemisches wurde nachfolgend von Meyer (1938) entwickelt (Abb. 38); das Gerät arbeitete auf der Grundlage des „Cytozon“.

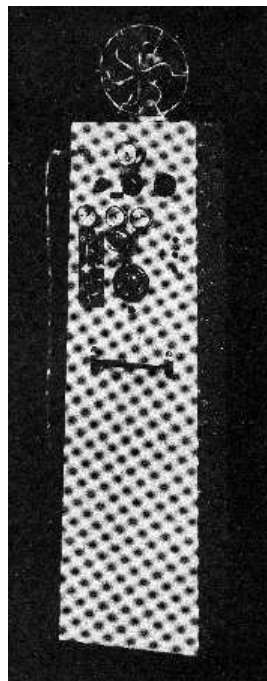


Abbildung 38: Im Eigenbetrieb hergestellter Ozonapparat von Dr. H. Meyer (1938)

Meyer (1938) war es mit seiner Apparatur gelungen, die Ozonkonzentration durch Änderung der Geschwindigkeit des Gasstroms zu variieren und unabhängig von der Gasgeschwindigkeit gleiche Konzentrationen des Ozonsauerstoffgemisches zu garantieren. Dies war für die Behandlung parodontaler Erkrankungen sehr wichtig, weil die ins Gewebe infiltrierte Gasmenge nur unter ganz geringem Druck einfließen sollte, um retikuläre

Zerreißen des Gewebes zu verhüten. Gleichzeitig sollte die Konzentration niedrig gehalten werden, weil Beobachtungen vorlagen, dass niedrige Konzentrationen zu den günstigsten reparatorischen Ergebnissen führten (Meyer 1938).

Das wachsende Interesse an einer Ozontherapie und die damit verbundene Verfügbarkeit von geeigneten Geräten führten zur Entwicklung des „Fulgozon“ durch Reuter (1939) (Abb. 39). Reuter war der Meinung, dass der Zahnarzt ein Ozongerät benötigt, das ein Gas mit möglichst hohem Ozongehalt liefert und auf Grund des raschen Zerfalls des Gases ($O_2 + O$) schnell wieder arbeitsbereit sein muss. Um dies zu ermöglichen, sollte der „Ozonisator“ nahe dem Behandlungsort verfügbar sein. In dieser Apparatur gelangte das Ozon nach einem Weg von zirka 15 cm an den betreffenden Wirkort. Bei dem in der vorliegenden Studie verwendeten HealOzoneTM-Gerätes ist der Weg des Ozongemisches vom Ozongenerator bis zum Wirkungsort etwa 1,85 m lang.

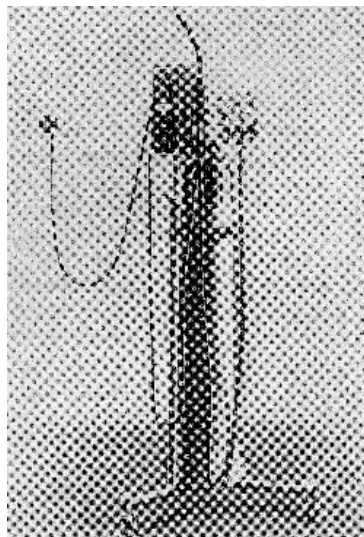


Abbildung 39: Fulgozon-Apparat nach Reuter (1939)

Nachfolgend wurde in der Schweiz ein neues Gerät zur Ozonbehandlung entwickelt (Tracksdorf 1956). Beim „Ionozon“ wurde Wasserdampf durch ein Hochfrequenzfeld geleitet, ionisiert und mit Ozon angereichert. Es wurde also nicht mehr ein trockenes Ozon-Sauerstoffgemisch verwendet, sondern Wasserdampf mit Ozon und molekularem und atomarem Sauerstoff. Der Vorteil des Gerätes lag in der Vermeidung von Stickoxiden bei der Ozonherstellung (Tracksdorf 1956).

Das „Hydrozotome“ aus hochlegiertem Stahl wurde 1969 entwickelt (Sandhaus 1969); die Behälter enthielten jeweils physiologische Kochsalzlösung und ozoniertes Wasser. Die

Füllung aus dem Vorratsgefäß geschah durch Ansaugen und das Ozonieren des bidestillierten Wassers erfolgte im Gerät. Das bei der Ozonierung vom Wasser nicht aufgenommene überschüssige Ozon wurde einem so genannten Destruktor zugeführt, dort katalytisch in Sauerstoff umgewandelt und aus dem Gerät ausgeführt. Beim heutigen HealOzoneTM-Gerät wird Ozon nur unter Vakuum appliziert; ansonsten wird das Ozon wieder in den Kreislauf des Generators zurückgeführt und zerfällt in seine Ausgangsbestandteile (Abb. 2). Zeitgemäße Ozongeräte stehen dem Zahnarzt heute mit dem Ozonytron[®] (Abb. 1) der Firma Ultradent bzw. dem HealOzoneTM-Gerät (Abb. 2) der Firma KaVo Dental zur Verfügung. Mit Entwicklung der beiden letzten Geräte wurde verstärkt Ozongas in der Zahnheilkunde eingesetzt bzw. empfohlen.

Die Diskussion zur Verwendung des Ozons in der Zahnmedizin wird aber bis heute noch kontrovers geführt. Lynch (2004), Herausgeber des Buches „Ozon: die Revolution in der Zahnmedizin“ (Ozone: The Revolution in Dentistry), zeigt viel versprechende Einsatzmöglichkeiten der Ozontherapie in der Zahnmedizin auf. Die Ozonierung wird von der Prophylaxe bis hin zur Behandlung verschiedenster Munderkrankungen empfohlen (Abu-Naba`a et al. 2004 a, Holmes und Lynch 2004, Johnson et al. 2004, Johnson 2004, Megighian 2004). In der Prophylaxe findet diese Therapieform besonders Anwendung bei festsitzenden Apparaturen in der Kieferorthopädie (Stockleben 2004) und Fissurenversiegelungen (Abu-Naba`a et al. 2004b). Die Fissurenkaries in den Initialstadien (Huth und Hickel 2004, Abu-Naba`a und Lynch 2004), Caries profunda (Lussi und Francescut 2004) und die Zahnhalskaries (Baysan et al. 2000, Holmes 2003, Baysan und Lynch 2004 a, b, Baysan und Lynch 2006) können mit Ozon behandelt werden. Für die Approximalkaries steht noch keine geeignete Applikationsform zur Verfügung (Lynch 2003). Zur Desinfektion von Wurzelkanälen wird Ozon in Kombination mit Natriumhypochloritspülung empfohlen (Steier und Steier 2004). Auch Halitosis verursachende Parodontopathien (Stockleben 2004) und Periimplantitis (Stockleben 2004) können mit Ozon therapiert werden. Heilend scheint sich Ozon auch auf virale Infektionen wie Herpes oder Aphthen sowie in der Vorbeugung postoperativer Hypersensibilitäten auszuwirken (Stockleben 2004). Bei der Behandlung von Angstpatienten stößt die Therapieform auf eine breite Akzeptanz (Abu-Naba`a et al. 2004 a, b, Freeman et al. 2004). Dahnhardt et al. (2006) empfehlen die Ozonbehandlung bei Kindern mit frühkindlicher Karies, weil die Karies zum Stillstand kommt und die Kinder später, wenn sie behandlungsfähig sind, ohne Narkose therapiert werden können.

Demgegenüber kritisieren Rickard et al. (2004) eine wissenschaftlich nicht bewiesene Ozonwirkung bei der Kariesbehandlung auf der Basis ihrer Meta-Analyse vorliegenden Ozonstudien in den Publikationsmedien Cochrane Oral Health Group's Trials Register, Cochrane Central Register of Controlled Trials, MEDLINE, PREMEDLINE, EMBASE, CINAHL, AMED und Quintessence und einer Befragung des Herstellers (Fa. KaVo) zu Ergebnissen aktueller klinischer Studien. Die Meta-Analyse berücksichtigte nur In-vivo-Studien zur Ozonanwendung. Die Studien wurden zunächst unter verschiedenen Selektionskriterien – wie beispielsweise dem Vorhandensein einer Kontrollgruppe oder einem Kontrollzeitraum – betrachtet. Von 45 Studien genügten nur drei Studien den Selektionskriterien und wurden der Meta-Analyse unterzogen. Rickard et al. kamen 2004 zu dem Ergebnis, dass es bis dahin keinen wissenschaftlich gesicherten Beweis dafür gibt, dass die Anwendung von Ozon einen kariösen Prozess zum Stillstand bringen kann bzw. zu seiner Remineralisation beiträgt. Brazzeli et al. (2006) schlossen sich der Kritik bezüglich der Behandlung von der Fissuren- und Wurzelkaries mit Ozon an und forderten weiterführende Studien mit adäquatem Studiendesign.

Das HealOzone™-Gerät wurde in der vorliegenden Untersuchung eingesetzt. Das Gerät produziert eine Ozonkonzentration von 2100 ppm, die über der des Ozonytron® liegt. Die Geschwindigkeit des Ozon-Luftgemisches beträgt bei Austritt aus dem Handstück 5 m/sec. Diese kinetische Energie der Teilchen soll die therapeutische Tiefenwirkung unterstützen. Dies konnte Weiß (2007) bei zu langen Wurzelkanälen und Verwendung zu kurzer Kanülen und trotzdem erreichter Desinfektion bestätigen. Offensichtlich wurde die Kürze der Kanülen durch die Geschwindigkeit des Austrittes des Gasgemisches kompensiert, denn in ihren Untersuchungen konnte Weiß (2007) eine Reduktion von *E. faecalis* und *C. albicans* um etwa eine Zehnerpotenz im experimentellen Wurzelkanalmodell nach Ozonbehandlung nachweisen. In Übereinstimmung dazu konnten Estrela et al. (2007) in ihrer In-vitro-Studie mit ozoniertem Wasser (1L steriles Aqua dest. mit Ozondurchfluss von 7 g h^{-1} , 1,2%) und gasförmigem Ozon *E. faecalis* aus zuvor inokulierten humanen Wurzelkanälen nicht eradizieren.

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Reduktion von Mutans-Streptokokken (Tab. 2) experimentell auf Okklusalfächen durch Ozon und der Reduktion von Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten am artifiziellen Kavitätenboden nachgegangen. Für letztere Untersuchungen wurden die drei letztgenannten Keimgruppen ausgewählt (Tab. 2, Tab. 5), da sie zum einen für die Kariesauslösung und zum anderen für das Fortschreiten der Karies Bedeutung haben (Abb. 40).

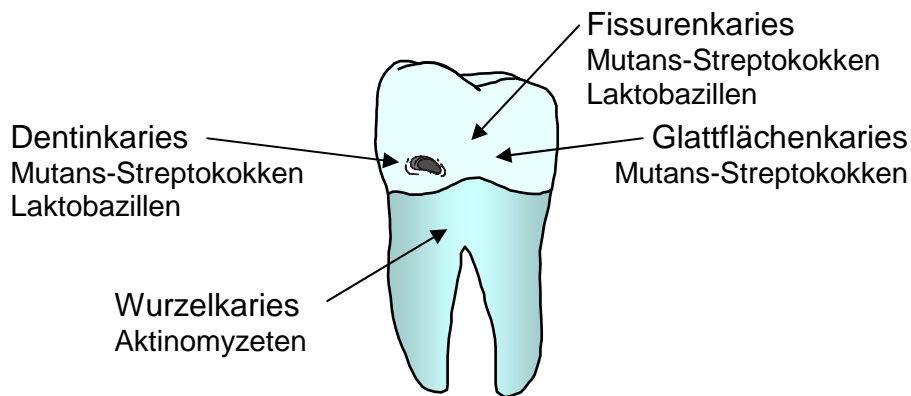


Abbildung 40: Kariesformen und kariogene Keimgruppen

Für mikrobiologische Untersuchungen im Wurzelkanal sind demgegenüber *Enterococcus faecalis* und *Candida albicans* die Problemkeime. Letztere wurden daher auch von Nagayoshi et al. (2004), Stoll et al. (2004), Hems et al. (2005) und Noetzel et al. (2005) für In-vitro-Untersuchungen zur Desinfektion von Wurzelkanälen ausgewählt.

Vorliegend wurden 120 Okklusalflächen und 80 Kavitätenböden in die Untersuchungen einbezogen. Die Okklusalflächen wurden standardisiert mit Mutans-Streptokokken und die Kavitätenböden mit Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten inokuliert.

Von den Okklusalflächen erfolgten die Probeentnahmen mit einem Einwegpinsel und von den Kavitätenböden mit einem Exkavator. Der Reproduzierbarkeit einer Probenahme mit einem Einwegpinsel gingen zuvor Andree et al. (2004) in vitro bei der Erprobung des CRT[®] *bacteria* in vitro nach und setzten die Pinseltechnik nachfolgend erfolgreich bei der Plaqueuntersuchung von Kindern ein.

Vorliegend stand die Frage im Raum, ob eine Probenahme vor und nach der Behandlung von Okklusalflächen jeweils von der rechten und linken Okklusalfäche erlaubt ist, wobei eine Okklusalhälfte repräsentativ für die Keimzahl vor und die andere für die Keimzahl nach der Behandlung sein sollte. Voraussetzung für die Wahl der Methode war, dass sich beide Zahnflächenhälften in ihrer Besiedlung vor der Behandlung nicht unterscheiden durften. In Vorversuchen konnte dies an 22 Zahnflächen bestätigt werden, so dass die Methode in der vorliegenden Studie eingesetzt wurde (Abb. 9). Die subjektiv gleiche Entnahme von Dentinproben vom Kavitätenboden mit einem Exkavator wurde zuvor von Kneist et al. (1989, 1990) erfolgreich eingesetzt. Die Entnahmetechnik wurde deshalb auch in der vorliegenden Studie übernommen. Andere Autoren bezogen Keimzahlen demgegenüber auf mg Dentin; dies setzt ein Wägen der Dentinproben unter aseptischen

Bedingungen voraus und erschwert eine zügige Aufarbeitung der Proben. Im Vergleich zu Edwardsson (1974), der Keimzahlen auf mg kariösen Dentins bezog, fanden Heinrich und Kneist (1988) und Heinrich et al. (1991) bei Verwendung eines Exkavators kein anderes Keimspektrum im kariösen Dentin und konnten darüber hinaus die Dynamik der Keimzahlen im Dentin und deren pulpapathogene Wirkung erfassen (Kneist et al. 1989).

Die vorgelegte Etablierung der Keime auf den Okklusalflächen gelang in einer Größenordnung, die den Nachweis einer durch die Behandlung resultierende Keimreduktion ermöglichen würde (Abb. 15, Abb. 19).

Die Okklusalflächen von Molaren und Prämolaren sind für die mikrobielle Besiedlung durch mehr oder weniger tiefe Fissuren und Grübchen prädestiniert (Abb. 7). Sie sind die am stärksten durch Karies gefährdeten Zahnflächen (Nagano 1960, Loesche 1986, Steiner et al. 1994). Abbildung 41 zeigt im Vergleich zur artifiziell inokulierten Okklusalfäche (Abb. 7) den Biofilm eines frisch extrahierten und in Balmellibouillon bebrüteten Zahnes; der Zahn wurde zuvor lediglich von Weichgewebe gesäubert und in sterilem Wasser gespült. Kokkenförmige Bakterien und Filamente sind nach Bebrütung von 24 Stunden deutlich erkennbar.

Die Fissuren haben wegen ihrer V-, U-, I- oder IK-Form eine mangelnde Selbstreinigung. Nach den frühen Analysen von Nagano (1960) bestätigten später auch Lussi und Schaffner (2002) und Lussi et al. (2003) die Unzugänglichkeit von tiefen Fissuren für die mechanische Zahnreinigung (Abb. 42).

Fissuren mit einem Öffnungswinkel von weniger als 70° sind besonders kariesanfällig. Nach Nagano (1960) sind die unterschiedlichen Fissurenformen epidemiologisch zwischen 7% und 34% verbreitet (Abb. 42). Auf Grund der mangelhaften bzw. unmöglichen Reinigung von tiefen Fissuren wird seit 1993 die Fissurenversiegelung als präventive Leistung von den Krankenkassen getragen. Die kariespräventive Wirkung der Fissurenversiegelung – also den Schutz der Fissur vor Laktobazillen und Mutans-Streptokokken – konnten Heinrich-Weltzien et al. (1998) bei Erfurter Kindern und Jugendlichen aufzeigen. Bei Kindern ohne Fissurenversiegelung wurde in einem Beobachtungszeitraum von vier Jahren ein doppelt so hoher Kariesfall registriert im Vergleich zu den Altersgefährten mit mindestens einer Fissurenversiegelung. Ob die Fissurenversiegelung langfristig die Kariesauslösung nur verzögert, wird gegenwärtig diskutiert (Nyvad 2003, Stürzenbaum 2007).

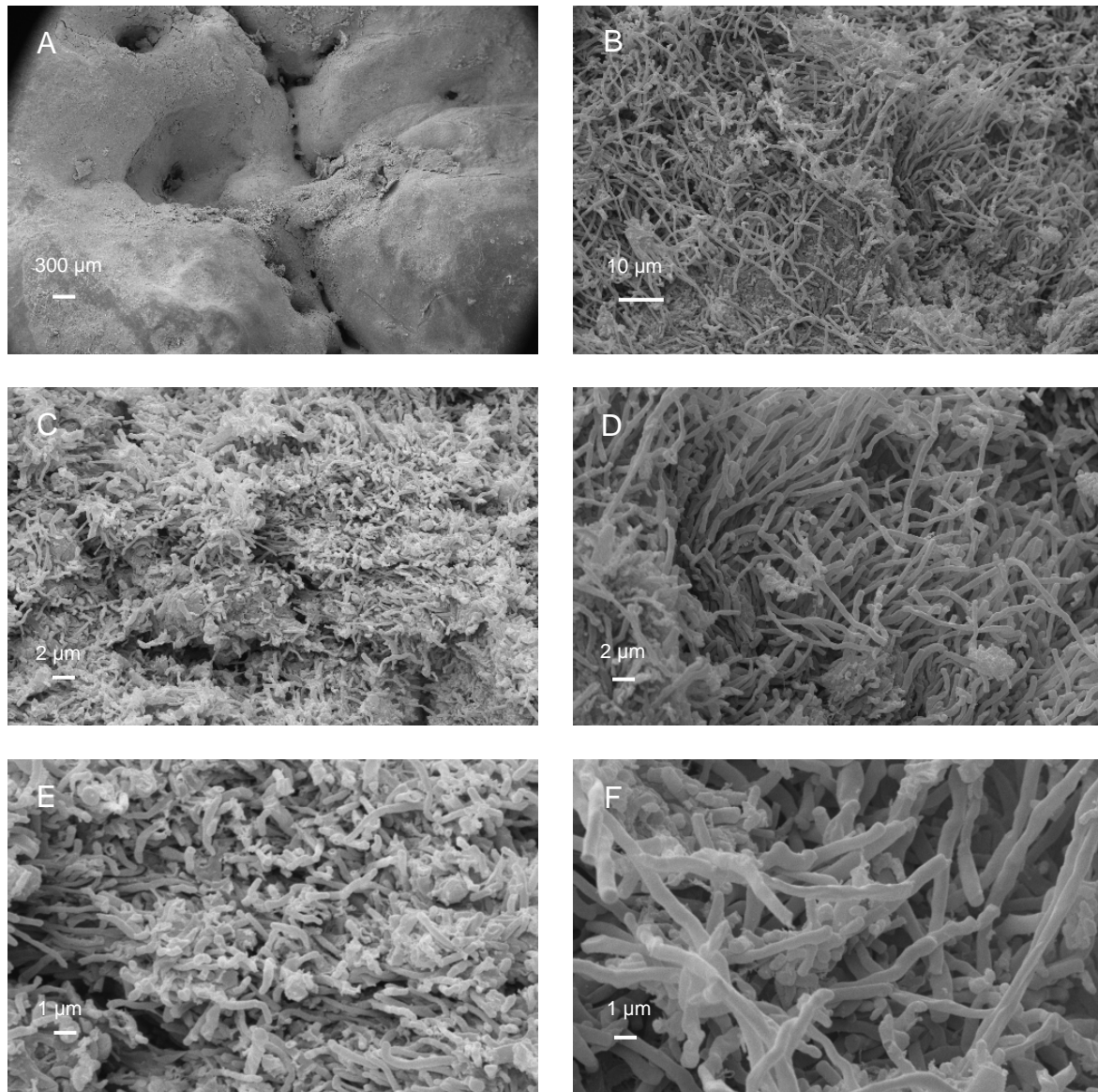


Abbildung 41: Biofilm – kokkenförmige Bakterien und Filamente – auf der Okklusalfäche eines frisch extrahierten und in Balmellibouillon bebrüteten Zahnes nach Entfernung der Weichgewebe und 24 Stunden Bebrütung in Balmellibouillon (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 100fach, D = 200fach, E = 500fach, F = 500fach)

Sowohl Mutans-Streptokokken, die an Zahnglatflächen durch Produktion extrazellulärer Polysaccharide haften können, als auch Laktobazillen, die nicht an Zahnglatflächen haften und zur natürlichen Speichelflora zählen, finden in tiefen Fissuren eine Nische, weil sie einer Herausspülung bzw. einer Zahnreinigung entgehen. Beide Keimgruppen sind azidogen und azidophil, d. h. sie produzieren selbst Säuren und lieben das saure Milieu. Sie bilden Milchsäure, die stärkste organische Säure, aus Di- und Monosacchariden der Nahrung und können darüber hinaus als säuretolerante Keime das saure Milieu, das sie selbst schaffen, tolerieren und demineralisieren die Zahnhartgewebe.









| Fissuren- form | Günstige Form Öffnungswinkel 70 – 90° Selbstreinigung | Ungünstige Form Öffnungswinkel < 70° Keine Selbstreinigung | Häufigkeit |
|-------------------|---|---|------------|
| V |  |  | 34% |
| U |  |  | 14% |
| I |  |  | 19% |
| IK |  |  | 26% |
| Andere | | | 7% |

Abbildung 42: Fissurenformen und ihre Prädilektionsstellen (nach Nagano 1960)

Ob Streptokokken oder Laktobazillen die Karies auslösen, entschieden nach etwa 60 Jahren wissenschaftlichen Meinungsstreites Orland et al. (1954, 1955) durch gnotobiotische Tierversuche an Ratten zugunsten der Streptokokken. Später konnte aber Fitzgerald et al. (1966) auch durch Laktobazillen in gnotobiotischen Tierversuchen Fissurenkaries auslösen. Michalek et al. (1981) infizierten gnotobiotische Ratten mit Stämmen von Laktobazillen und Streptokokken getrennt und mit Mischkulturen beider Keimgruppen. Die mit Laktobazillen monoinfizierten Tiere entwickelten deutlich weniger Karies als die mit Streptokokken monoinfizierten Tiere. Bei den Tieren, die mit Laktobazillen und Streptokokken infiziert waren, etablierten sich die Laktobazillen vorrangig im Speichel und auf der Zungenoberfläche und die Streptokokken dominierten in der Plaque.

Vor diesem Hintergrund wurden für die vorliegenden Untersuchungen ausschließlich Molaren mit deutlich sondierbaren Fissuren bzw. tiefem und höckerigem Fissurenrelief (Abb. 5) verwendet, um zu prüfen, ob eine Ozonbehandlung Mutans-Streptokokken von Okklusalfächen effizient eliminiert. Zuvor konnten Baysan et al. (2000) zumindest zeigen, dass Ozongas einen Bakterienrasen von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sobrinus* auf Agaroberflächen wirksam abtötet.

Vor der Ozonbehandlung wird vom Hersteller eine professionelle Zahnreinigung empfohlen. Durch die professionelle Zahnreinigung in dieser Studie konnte bereits eine signifikante Keimreduktion nachgewiesen werden (Abb. 16, Anhang Tab. 1). Eine nachfolgende HealOzonTM-Behandlung von 30 und 60 Sekunden führte aber nicht zur erwarteten weiteren Keimreduktion (Abb. 16, 17). Erst nach einer Behandlungszeit von 90 Sekunden konnte eine Reduktion der Keimzahlen von etwa zwei Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Abb. 18). Nach der Keimreduktion durch die professionelle Zahnreinigung war nach der sich anschließenden 30 Sekunden langen HealOzonTM-Behandlung sogar ein tendenzieller Anstieg der Keimzahlen auf den Okklusalfächen nachweisbar, der nach 60 Sekunden HealOzonTM-Behandlung wieder tendenziell sank. Eine Behandlung von 90 Sekunden bestätigte die tendenzielle Senkung der Keimzahlen mit der Länge der Behandlungsdauer; nach einer Behandlungszeit von 90 Sekunden stellte sich eine signifikante Keimzahlreduktion ein. Ein Erklärungsmodell für diese Situation zeigt Abbildung 43.

Es wäre somit vorstellbar, dass nach der signifikanten Reduktion der Keimzahlen auf den Okklusalfächen durch professionelle Zahnreinigung nur eine 90 Sekunden lange HealOzoneTM-Behandlung erfolgreich war, weil die Länge der Behandlungszeit ausreichte, um die aus den Fissuren – infolge des Sogs, bedingt durch das Vakuum während der Ozonapplikation – „aufgestiegenen“ Keime ebenso zu reduzieren. Eine so genannte „Tiefenwirkung“ wäre vorstellbar, die sich aus einer Kombination von mechanischer und chemischer (Ozon) Reinigung in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit ergibt. Dass der abschließende Spülvorgang des Gerätes die Keimzahlen nicht nochmals beeinflusste, konnte nachgewiesen werden (Anhang Tab. 10).

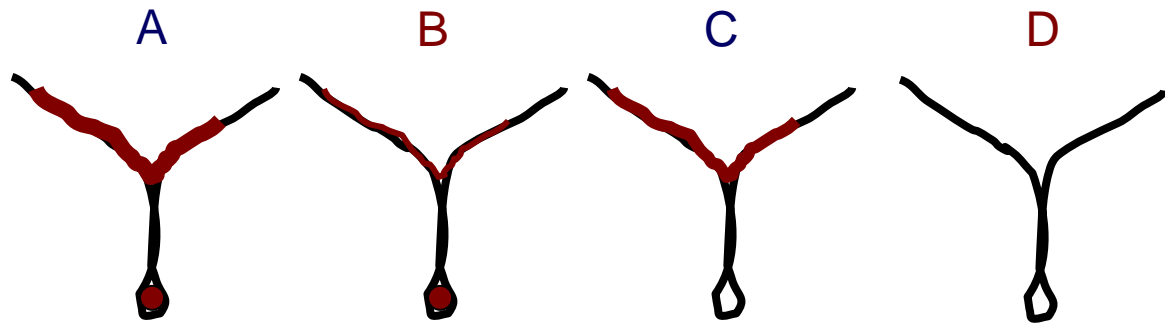


Abbildung 43: Erklärungsmodell der Keimzahldynamik nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nachfolgender Behandlung mit HealOzone™ (A: Vor PZR hohe Keimzahl auf der Okklusalfäche B: Reduktion der Keimzahl auf der Okklusalfäche durch professionelle Zahnreinigung C: Durch die 30 und 60 Sekunden lange HealOzone™-Behandlung werden Keime aus der Fissur – bedingt durch das Vakuum – auf die gesäuberte Okklusalfäche befördert und nicht erneut reduziert D: Durch die 90 Sekunden lange HealOzone™-Behandlung werden ebenso Keime aus der Fissur – bedingt durch das Vakuum – auf die gesäuberte Okklusalfäche befördert aber durch die Länge der Behandlungszeit wieder reduziert)

So genannte „Subsurface Lesions“ sind grundsätzlich remineralisationsfähig (Featherstone et al. 1990, Maupome et al. 2001). Allerdings nur in den Fällen, in denen es gelingt, die zu remineralisierende Fläche plaquefrei zu halten. Von daher haben demineralisierte Flächen im bukkalen und lingualen Glattflächenbereich naturgemäß eine größere Wahrscheinlichkeit der Remineralisation als demineralisierte Areale in der Fissur oder im Approximalbereich. Die Ozonapplikation auf demineralisierte Initialläsionen eröffnet darüber hinaus die Möglichkeit, eine Kariesaktivität in der Tiefe der Läsion zum Erliegen zu bringen. Dies schafft insbesondere im Glattflächenbereich die Möglichkeit verbesserter Remineralisationsbedingungen. Die vorliegenden Ergebnisse zur Keimreduktion und ihrer möglichen Tiefenwirkung im Fissuren-Modell in vitro könnte die Ergebnisse von Huth et al. (2005) erklären.

Huth et al. (2005) behandelten initial kariöse Fissuren in einer klinischen „split mouth“ Studie mit und ohne Ozon. Von 57 Läsionspaaren im Mund von 41 6- bis 9-jährigen Kindern wurde die Okklusalfäche eines Zahnes – ohne Verwendung der ebenso vom Hersteller empfohlenen Remineralisationslösung – 40 Sekunden mit HealOzone™ behandelt und prospektiv mit dem Laser-Fluoreszenz-System DIAGNOdent drei Monate unter Kontrolle gehalten; der Partnerzahn blieb – bei gleicher prospektiver Kontrolle – unbehandelt. Eine Remineralisation durch die Remineralisationslösung wurde als Störfaktor ausgeschlossen. Nach den Ergebnissen von Huth et al. (2005) lagen in der Gesamtgruppe der Kinder weder Unterschiede in der Rückführung noch in der Progression der initial kariösen Läsionen der Fissuren mit und ohne Ozonbehandlung vor, wohl aber in einer Untergruppe von

26 Zahnpaaren von Kindern mit erhöhtem Kariesrisiko. An den mit Ozon behandelten Zähnen dieser Kinder entwickelten sich signifikant mehr initial kariöse Läsionen zurück bzw. es lag eine signifikant geringere Kariesprogression vor im Vergleich zu den unbehandelten Zähnen. Die Autoren empfahlen die Ozonbehandlung zur Therapie nicht kavittierter initial kariöser Fissuren bei Kindern mit hohem Kariesrisiko.

Nach Ergebnissen von Heinrich-Weltzien et al. (1998) entwickelten sich bei Kindern und Jugendlichen in 76% der Fälle initial kariöse Läsionen auf den Okklusalfächen bei ausbleibender individueller präventiver Betreuung innerhalb von 4 Jahren zu einer Defektkaries.

Nach klinisch-mikrobiologischen Untersuchungen von Heinrich et al. (1985), Kneist und Heinrich (1988) und Kneist et al. (1989) dominieren im kariösen weichen Dentin Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten (Abb. 44).

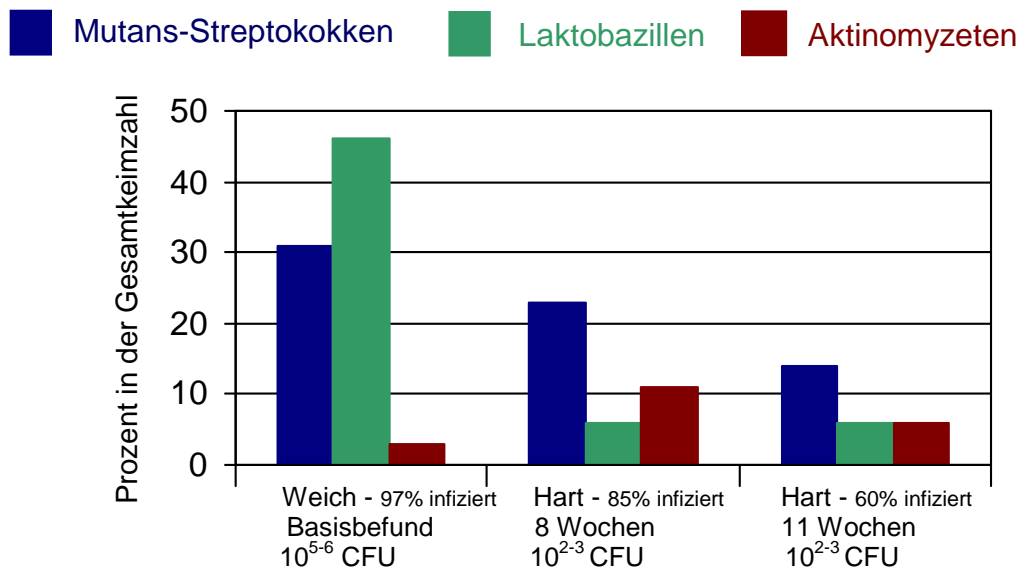


Abbildung 44: Mikrobielle Besiedlung der Kavitätenböden von 70 Milchmolaren nach Caries profunda Therapie (Kneist et al. 1989)

97% des erweichten Dentins waren mit 10^{5-6} Keimen infiziert. Nach Kariesexkavation war das harte Dentin (Sondenklirren) noch in 85% mit einer Keimzahl von 10^{2-3} infiziert, die bei Erhaltung der Pulpaintegrität und dichtem Kavitätenverschluss von der Pulpa toleriert wurde. Durch histologisch-mikrobiologische Nachuntersuchung der Zähne konnten die Autoren aufzeigen, dass die Pulpa in 71% der Fälle ausgeheilt bzw. entzündungsfrei war. Mutans-Streptokokken und Laktobazillen kamen nur in Fällen pulpaler Entzündungen am Kavitätenboden vor. Aktinomyzeten waren demgegenüber mit einer entzündungsfreien Pulpa vergesellschaftet (Kneist et al. 1989).

Nachfolgend wurden Keimzahlen in Höhe von 10^{2-3} am Kavitätenboden auch von Kidd et al. (1995), Bjorndal et al. (1997) und Weerheijm und Groen (1999), Kidd und Fejerskov (2004) und Kidd (2004) als klinisch bedeutungslos bzw. als von der Pulpa tolerierbar eingeschätzt.

Ist klinisch der dichte Kavitätenverschluss aber nicht mehr gegeben, so können sich restierende Keime am Kavitätenboden durch Substratzufuhr wieder vermehren und pulpawärts progredieren (Kneist et al. 1988). Laktobazillen können auch über Randspalten eindringen und eine Sekundärkaries auslösen (Fitzgerald et al. 1994, Kidd et al. 1995, Kidd und Beighton 1996, Gonzalez-Cabezas et al. 1999). Insofern stand vorliegend die Frage im Raum, ob die geringe mikrobielle Restbesiedelung am Kavitätenboden durch eine HealOzone™-Behandlung reduziert werden kann. Vergleichbare Untersuchungen im Schrifttum liegen dazu bislang nicht vor.

Der Gedanke einer Dentindesinfektion mit Ozon wurde schon im Jahr 1890 von Herrmann aufgegriffen. Jolivet versuchte 1928 die Keimfreiheit kariöser Kavitäten durch Ozonbehandlung zu erreichen, indem er das Gas durch einen Luftbläser in die Kavität einbrachte. Kurzzeitig erzielte Jolivet (1928) zwar eine Geruchsminderung, blieb jedoch den bakteriologischen Beweis schuldig, zumindest eine Keimarmut erreicht zu haben; dies war in der damaligen Zeit beim Entwicklungsstand der Zahnheilkunde und oralen Mikrobiologie wohl auch schwer möglich. Meyer berichtete 1938, dass zur Desinfektion von Kavitäten die Anwendung des Ozons den Zahnarzt der Verpflichtung der kompromisslosen Entfernung kariösen Dentins enthebe. Nach Aussagen des Autors war die Exkavation kariösen Dentins bis zur transparenten Zone über dem Pulpenkavum, also bis zum Reizdentin, erforderlich. Eine Behandlung mit 4%igem Ozon für 2 bis 3 Minuten genügte nach Meyer (1938), um dem Gewebe einen seidenartigen Glanz zu verleihen, worauf nach einer Zementunterfüllung die Kavität sofort definitiv versorgt werden könne. Auch bei einer artifiziell eröffneten Pulpa wurde Ozon appliziert und überkappt. Da die Pulpa vital und ohne Reaktion blieb und starke Irritationen der Pulpa zurück gingen, schloss Meyer (1938) auf die bakterizide und oxidierende Wirkung des Ozons.

Aus heutiger Sicht konnte Baysan (2002) hinsichtlich der durch Aktinomyzeten ausgelösten Wurzelkaries zeigen, dass eine Wurzelkaries durch Ozonapplikation (HealOzone™, KaVo) zum Stillstand gebracht werden konnte. Wicht et al. (2006) erreichten an inkomplett exkavierten ersten Milchmolaren nach 20 und 60 Sekunden HealOzone™-Behandlung eine signifikante Keimreduktion von Mutans-Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten im kariösen Dentin. Die jeweiligen Reduktionen für die drei Keimgruppen lagen zwischen ein und zwei Zehnerpotenzen; eine komplette Keimreduktion konnte nicht erreicht werden.

Demgegenüber konnten Baysan und Beighton (2006) an frisch extrahierten Zähnen mit nicht kavitierten okklusalen kariösen Läsionen nach Entfernung von Plaque und Verfärbungen sowie nachfolgender HealOzone™-Behandlung von 40 Sekunden im darunter liegenden exkavierten kariösen Dentin keine Keimreduktion im Vergleich zu unbehandelten nicht kavitierten okklusalen kariösen Läsionen aufzeigen. Die Keimzahlen lagen in beiden Gruppen bei etwa 3×10^2 Keimen pro Dentinprobe. Folglich konnte eine Tiefenwirkung des Ozons nicht nachgewiesen werden, die vorliegend auf gesunden Okklusalfächen in tiefen Fissuren erkannt werden konnte (Abb. 43). Nach den Ergebnissen von Baysan und Beighton (2006) dürfte auch die „verborgene Karies“ (hidden caries) keine therapeutische Chance durch eine Ozonbehandlung haben. Dies steht in Übereinstimmung zu Lynch (2003), der für die so genannte „hidden caries“ – also tiefe, okklusale Läsionen ohne sichtbare Einbrüche an der Oberfläche – eine Kontraindikation für eine Ozonbehandlung sah, da das Fortschreiten der Karies zwar gestoppt werden könnte, aber eine Remineralisation nicht möglich wäre.

Vorliegend wurden 80 Molaren mit artifiziellen Klasse-I-Kavitäten und ausreichender Etablierung von Mutans-Streptokokken, Streptokokken, Laktobazillen und Aktinomyzeten an den Kavitätenböden für die Ozonbehandlung vorgelegt (Tab. 2, Tab. 5). Die an den Kavitätenböden etablierten Keimzahlen entsprachen der klinischen Situation nach Kariesexkavation. Es wurde der Frage nachgegangen, ob diese geringfügige Keimbesiedlung durch Ozonbehandlung beherrschbar ist. Allerdings wurden Monoinfektionen vorgenommen. In einem artifiziellen Mund-Modell zur Untersuchung der mikrobiellen Komponente der Schmelz- und Wurzelkaries arbeiteten Shu et al. (2000) auch mit Monokulturen. Die Autoren setzten jeweils *S. mutans*, *S. sobrinus*, *A. naeslundii* und *L. rhamnosus* auf Rinderschmelz und –dentin ein, kultivierten die Keime standardisiert durch Zugabe von Saccharose und setzten die Mikroradiographie und Messung der Schmelzhärte als Maß der Destruktion ein. Die Autoren legten Ergebnisse mit dem Schluss vor, dass sie mit den ausgewählten Keimen unter den kontrollierten Wachstumsbedingungen für die Keime im künstlichen Mund ein Modell erarbeitet hatten, dass an den Zahnhartgeweben einerseits die typischen Läsionen auslösen konnte und sich andererseits damit für die Klärung von mikrobiellen Interaktionen wie auch präventiven Fragestellungen eignete. Müller et al. (2007) konnten in artifiziellen Biofilmen aus *Actinomyces naeslundii*, *Veillonella dispar*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis* und *Candida albicans* keine befriedigende Keimreduktion nach HealOzone™ erreichen.

In der vorliegenden Studie lagen Streptokokken an den Modell-Kavitätenböden in einer CFU von $1,5 \times 10^3$ vor, Laktobazillen in einer CFU von $7,8 \times 10^3$ und Aktinomyzeten in

einer CFU von $10,7 \times 10^3$ (Abb. 19, 25, 31). Rasterelektronenmikroskopische Begleituntersuchungen machten die Etablierung sichtbar (Abb. 20, 26, 32). In Übereinstimmung zu Wicht et al. (2006) konnten die Keimzahlen aller drei Keimgruppen – hier im In-vitro-Modell des Kavitätenbodens – um ein bis zwei Zehnerpotenzen durch die Ozonbehandlung reduziert werden. Unterschiede lagen nach Wicht et al. (2006) zwischen einer Behandlungszeit von 20 und 60 Sekunden nicht vor; vorliegend wurde eine Behandlungszeit von 40 Sekunden gewählt. Die Zielstellung der Studie von Wicht et al. (2006) und die der vorliegenden Untersuchung ging von zwei unterschiedlichen Zielstellungen aus. Während Wicht et al. (2006) der kompletten Keimreduktion im kariösen Dentin durch Ozonbehandlung nachgingen, war das vorliegende Ziel, die Reduktion des restierenden Keimspektrums nach Kariesexkavation. Letzteres scheint möglich und sollte klinisch-mikrobiologisch weiterführend untersucht werden.

7 Schlussfolgerung

Ozon wirkt unumstritten viruzid, bakterizid und fungizid und zerstört Zellwände und Zellmembranen von Mikroorganismen. Ziel vorliegender Studie war es, die keimreduzierende Wirkung von HealOzone™ auf kariogene Keime in einem jeweiligen in vitro Modell auf okklusalen Zahnflächen und am Kavitätenboden zu prüfen. Die aus der Studie gewonnenen Ergebnisse und die daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen sind:

- Die Kombination von professioneller Zahnreinigung und Ozonbehandlung über 90 sec führt zu einer Keimreduktion von Mutans-Streptokokken sowohl auf okklusalen Zahnflächen als auch aus tiefen Fissuren. Ob in situ tatsächlich Keime aus tiefen Fissuren eliminiert werden, sollte in weiterführenden Untersuchungen bestätigt werden. Hierbei sollte auch die Frage beantwortet werden, ob eine Erhöhung der Ozonkonzentration zugunsten einer kürzeren Applikationszeit führt oder nicht. Die Behandlungszeit von einer Okklusalfäche bis zu 90 Sekunden ist im Praxisalltag sehr lang.
- Die Ozonbehandlung in vitro *nach* Kariesexkavation am harten Kavitätenboden bewirkt eine signifikante Streptokokken-, Laktobazillen- und Aktinomyzetenreduktion. Ob durch eine Ozonbehandlung in situ die restierende Mikroflora am harten Kavitätenboden beherrschbar ist, sollte durch klinisch-mikrobiologische Ergebnisse untermauert werden. Dabei steht nach wie vor die Frage im Raum, ob eine antibakterielle Behandlung harten und kariös veränderten Dentins am klinisch akzeptablen Kavitätenbodens erforderlich ist.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ozonytron® der Firma Ultradent

Abbildung 2: HealOzone™-Gerät von der Firma KaVo Dental

Abbildung 3: Aufbau und Funktionsweise des HealOzone™-Gerätes

Abbildung 4: Microbanks (Mast Diagnostica, Reinfeld) mit Keramikperlen zur Haltung der Bakterienstämme

Abbildung 5: In die In-vitro-Untersuchungen einbezogenen Okklusalfächen von Molaren mit höckerigem Fissurenrelief (Morphologie) und mit deutlicher Sondierung bzw. mit tiefem Fissurenrelief (Retentionsmuster) (A: Serie 30 sec, B: Serie 60 sec, C: Serie 90 sec; professionelle Zahnreinigung = PZR, Placebo = PL, HealOzone™ = Ozon)

Abbildung 6: In Flexitime (Fa. Heraeus/Kulzer) eingebetteter Molar (links) und Lagerung im Anaerobierbrutschrank VT 5042EK/N2, (Heraeus Instruments Hanau, Deutschland) (rechts)

Abbildung 7: Stereomikroskopisches Bild einer mit Streptococcus mutans inokulierten Okklusalfäche (links) nach 24stündiger Bebrütung in Mitis-salivarius-Bouillon und Ausschnitt der Kolonisierung im rasterelektronenmikroskopischen Bild (rechts)

Abbildung 8: Petrischalen mit Kolonien von S. mutans NCTC 10449 auf Mitis-salivarius-Agar mit Bacitracin **Oben:** Dreifachbestimmung Verdünnungsstufe 10^{-3} von der rechten Okklusalfäche **Unten:** Dreifachbestimmung Verdünnungsstufe 10^{-3} von der linken Okklusalfäche

Abbildung 9: Probenahme von der rechten und linken Okklusalfäche (n = 22) mit einem Pinsel (links) und mittlere Keimzahlen (log CFU) auf der linken (1.8061 ± 1.3110) und rechten (2.1697 ± 1.7782 ; p = 0,087) Okklusalfäche (rechts)

Abbildung 10: HealOzone™-Behandlung (C) (HealOzone™ 3, Typ 2130 C, KaVo, Biberach, D) in der Werkbank (Heraeus Lamin Air, HBB 2448, Hanau, Deutschland) und Latextest (A, B: das Material löste sich nach wenigen Sekunden durch das HealOzone™ auf)

Abbildung 11: Professionelle Zahnreinigung mit Prophyflex 2 (KaVo, Biberach) (A) und Okklubrush (B)

Abbildung 12: Standardisierte Probeentnahme mit Hilfe eines sterilen Exkavators (Exkavator DC27 1R Aesculap)

Abbildung 13: Ozonapplikation auf den Kavitätenboden (HealOzone™ 3, Typ 2130 C, KaVo, Biberach)

Abbildung 14: Mit S. mutans NCTC 10449 inokulierte Okklusalfäche im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 200fach, D = 500fach)

Abbildung 15: Log CFU der Impfsuspensionen (n = 15, $\log 7.2502 \pm 0.3379$) von S. mutans NCTC 10449 und etablierte Keimzahlen auf den Okklusalfächen (n = 120) vor den jeweiligen Behandlungen ($\log 2.2373 \pm 1.7602$)

Abbildung 16: Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 30 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung von jeweils 12 Okklusalfächen

Abbildung 17: Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 60 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung von jeweils 12 Okklusalfächen

Abbildung 18: Keimreduktion nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 90 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung von jeweils 12 Okklusalfächen

Abbildung 19: Mit *S. mutans* NCTC 10449 inokulierter Kavitätenboden im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 200fach, D = 500fach, E = 200fach, F = 500fach)

Abbildung 20: Mittlere Keimzahl von Streptokokken (1×10^6) pro ml Impfsuspension (n = 13) und etablierte mittlere Keimzahl ($1,5 \times 10^3$) auf den Kavitätenböden (n = 29)

Abbildung 21: Keimreduktion von *S. mutans* NCTC 10449 nach 20 (n = 6) und 40 Sekunden (n = 3) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 22: Keimreduktion von *S. sobrinus* OMZ 176 nach 20 (n = 6) und 40 Sekunden (n = 6) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 23: Keimreduktion von *S. sanguinis* 9S nach 20 (n = 6) und 40 Sekunden (n = 2) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 24: Keimreduktion von Streptokokken (*S. mutans* NCTC 10449, *S. sobrinus* OMZ 176, *S. sanguinis* 9S) nach 20 (n = 18) und 40 Sekunden (n = 11) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 25: Mit *Lactobacillus plantarum* DSMZ 2601 inokulierter Kavitätenboden im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 100fach, D = 500fach, E = 500fach, F = 500fach)

Abbildung 26: Mittlere Keimzahl von Laktobazillen (15×10^6) pro ml Impfsuspension (n = 9) und etablierte mittlere Keimzahl ($7,8 \times 10^3$) der Kavitätenböden (n = 27)

Abbildung 27: Keimreduktion von *L. casei* IMET 10692 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 6) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 28: Keimreduktion von *L. plantarum* DSMZ 2601 nach 20 (n = 6) und 40 Sekunden (n = 6) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 29: Keimreduktion von *L. coryniformis* DSMZ 20001 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 3) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 30: Keimreduktion von Laktobazillen (*L. casei* IMET 10692, *L. plantarum* DSMZ 2601 und *L. coryniformis* DSMZ 20001) nach 20 (n = 12) und 40 Sekunden (n = 15) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 31: Mit *A. denticola* NCTC 11490 inokulierter Kavitätenboden im rasterelektronenmikroskopischen Bild (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 12fach, B = 100fach, C = 200fach, D = 500fach, E = 200fach, F = 500fach)

Abbildung 32: Mittlere Keimzahl von Aktinomyzeten ($7,0 \times 10^6$) pro ml Impfsuspension (n = 24) und etablierte mittlere Keimzahl ($10,7 \times 10^3$) an den Kavitätenböden (n = 24)

Abbildung 33: Keimreduktion von *A. naeslundii* ATCC 27044 nach 20 (n = 6) und 40 Sekunden (n = 3) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 34: Keimreduktion von *A. denticola* NCTC 11490 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 6) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 35: Keimreduktion von *A. naeslundii* DSMZ 43760 nach 20 (n = 3) und 40 Sekunden (n = 3) Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 36: Keimreduktion von *A. naeslundii* ATCC 27044, *A. denticola* NCTC 11490 und *A. naeslundii* DSMZ 43760 nach 20 (n = 12) und 40 (n = 12) Sekunden Ozonbehandlung am Kavitätenboden

Abbildung 37: Das Ozongerät „Cytozon“ nach Fisch (1936)

Abbildung 38: Im Eigenbetrieb hergestellter Ozonapparat von Dr. H. Meyer (1938)

Abbildung 39: Fulgozon-Apparat nach Reuter (1939)

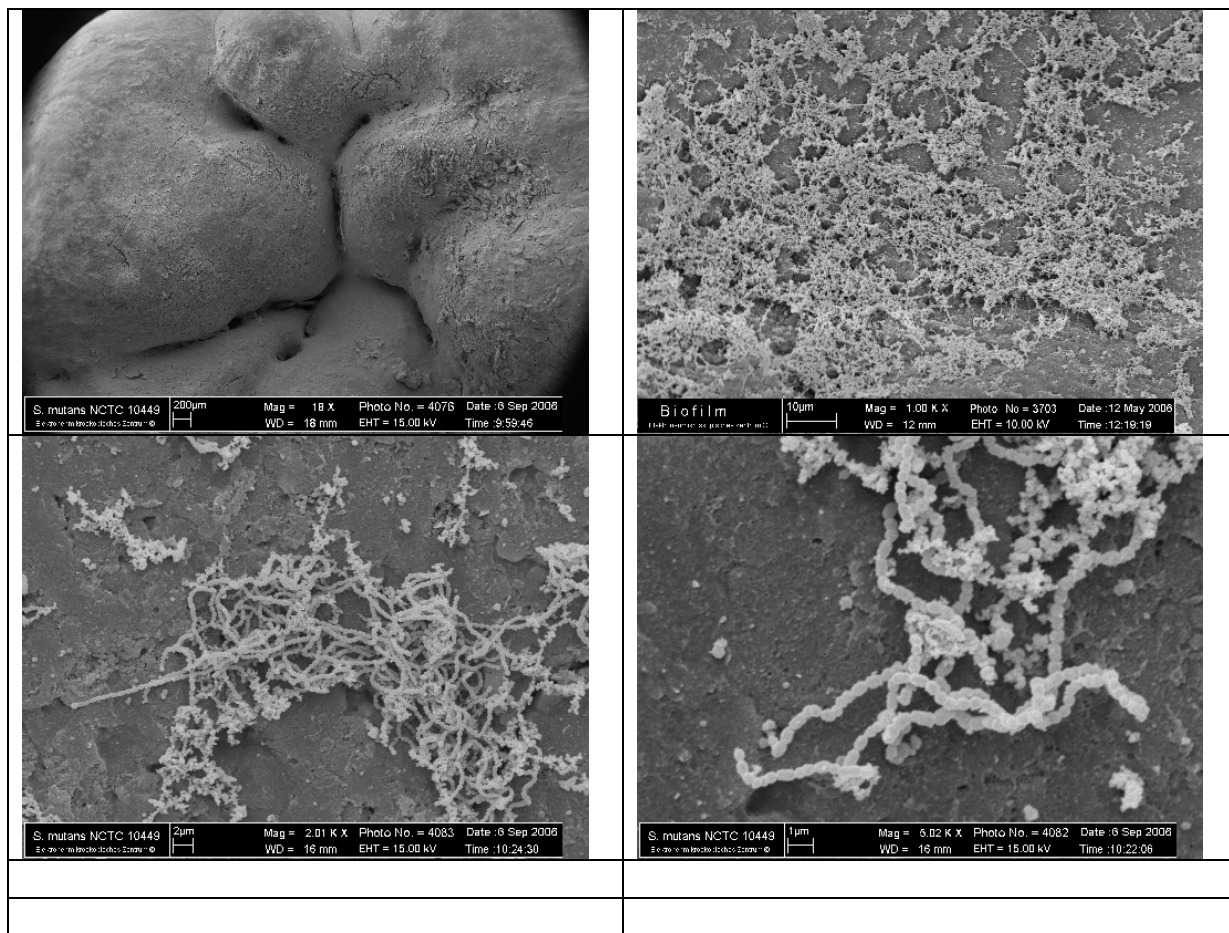
Abbildung 40: Kariesformen und kariogene Keimgruppen

Abbildung 41: Biofilm – kokkenförmige Bakterien und Filamente – auf der Okklusalfäche eines frisch extrahierten und in Balmellibouillon bebrüteten Zahnes nach Entfernung der Weichgewebe und 24 Stunden Bebrütung in Balmellibouillon (Überblick und Ausschnitte, Vergrößerungen: A = 18fach, B = 100fach, C = 100fach, D = 200fach, E = 500fach, F = 500fach)

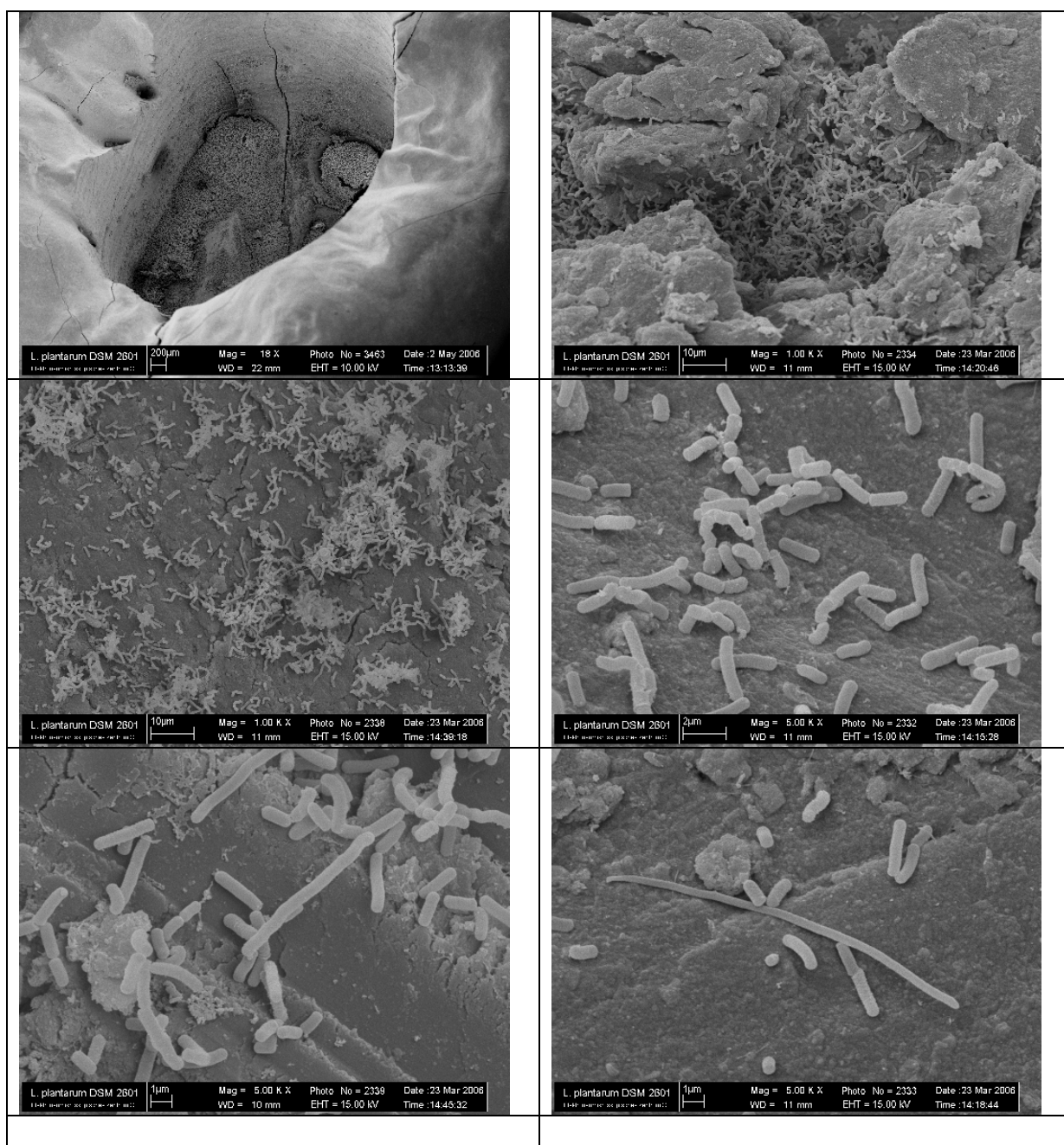
Abbildung 42: Fissurenformen und ihre Prädilektionsstellen (nach Nagano 1960)

Abbildung 43: Erklärungsmodell der Keimzahldynamik nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nachfolgender Behandlung mit HealOzone™ (A: Vor PZR hohe Keimzahl auf der Okklusalfäche B: Reduktion der Keimzahl auf der Okklusalfäche durch professionelle Zahnreinigung C: Durch die 30 und 60 Sekunden lange HealOzone™-Behandlung werden Keime aus der Fissur – bedingt durch das Vakuum – auf die gesäuberte Okklusalfäche befördert und nicht erneut reduziert D: Durch die 90 Sekunden lange HealOzone™-Behandlung werden ebenso Keime aus der Fissur – bedingt durch das Vakuum – auf die gesäuberte Okklusalfäche befördert aber durch die Länge der Behandlungszeit wieder reduziert)

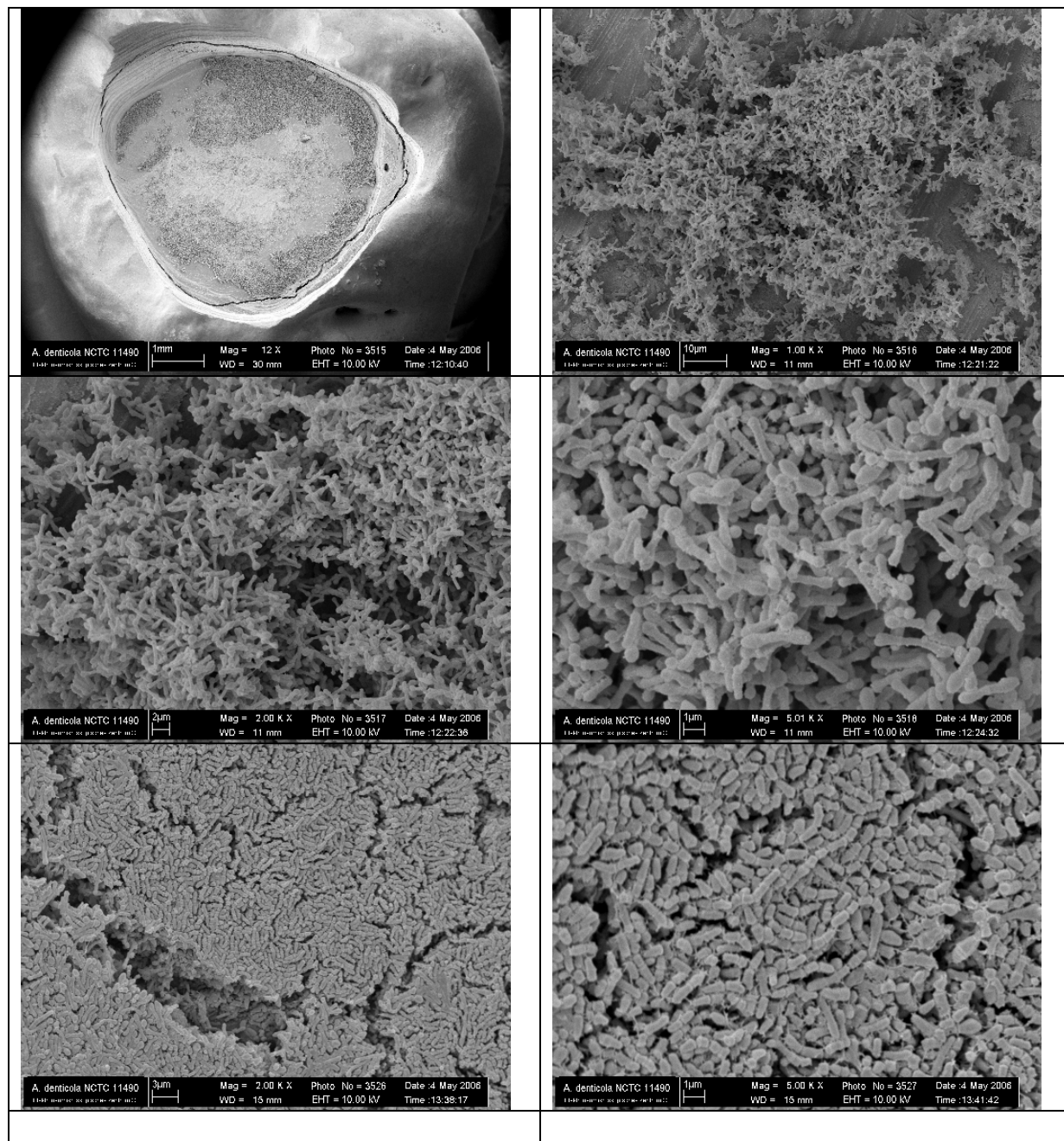
Abbildung 44: Mikrobielle Besiedlung der Kavitätenböden von 70 Milchmolaren nach Caries profunda Therapie (Die Vitalerhaltung des Milchzahnendodontes - Eine klinisch-mikrobiologische und histologische Studie (Kneist et al. 1989)



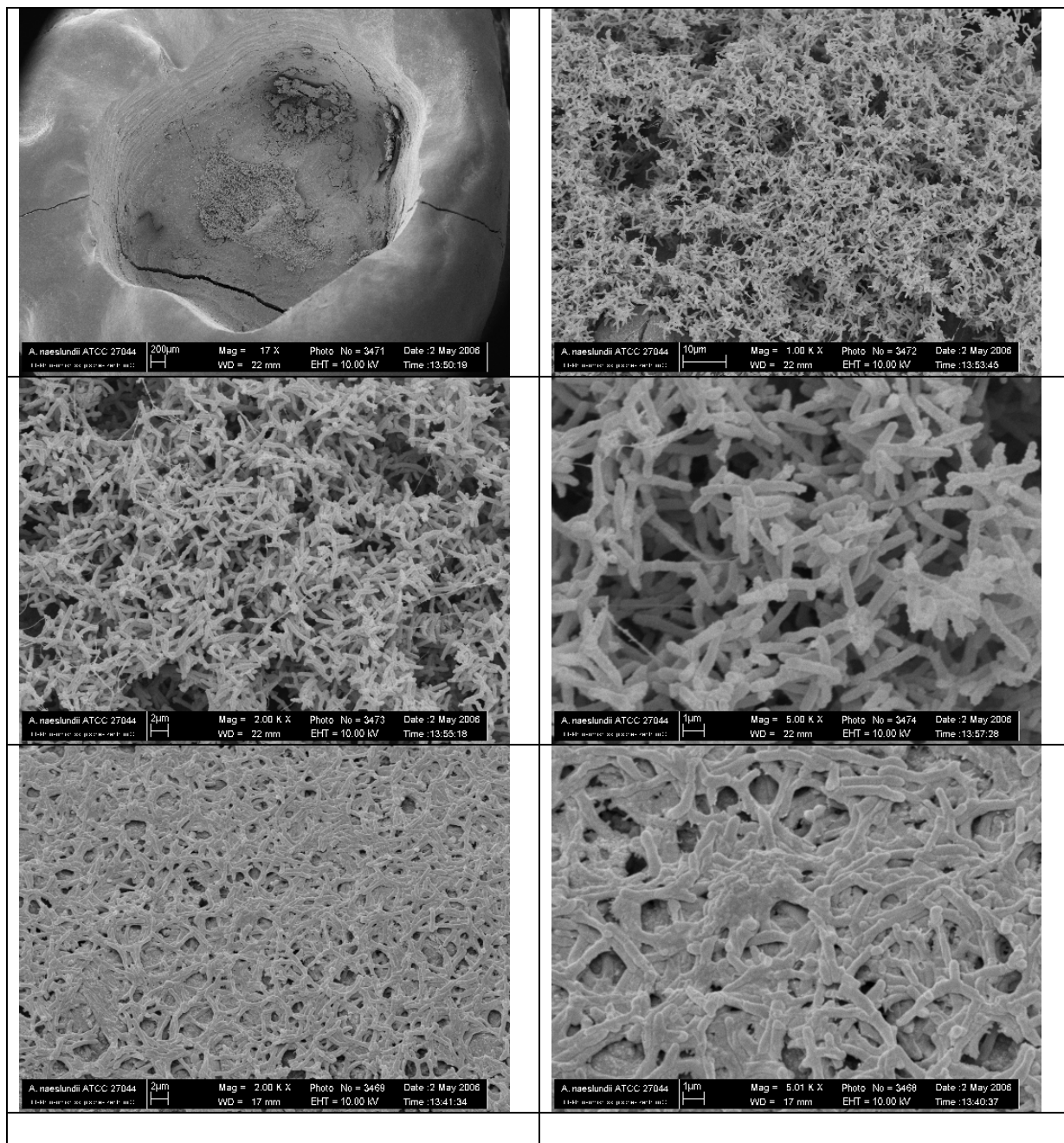
S. mutans



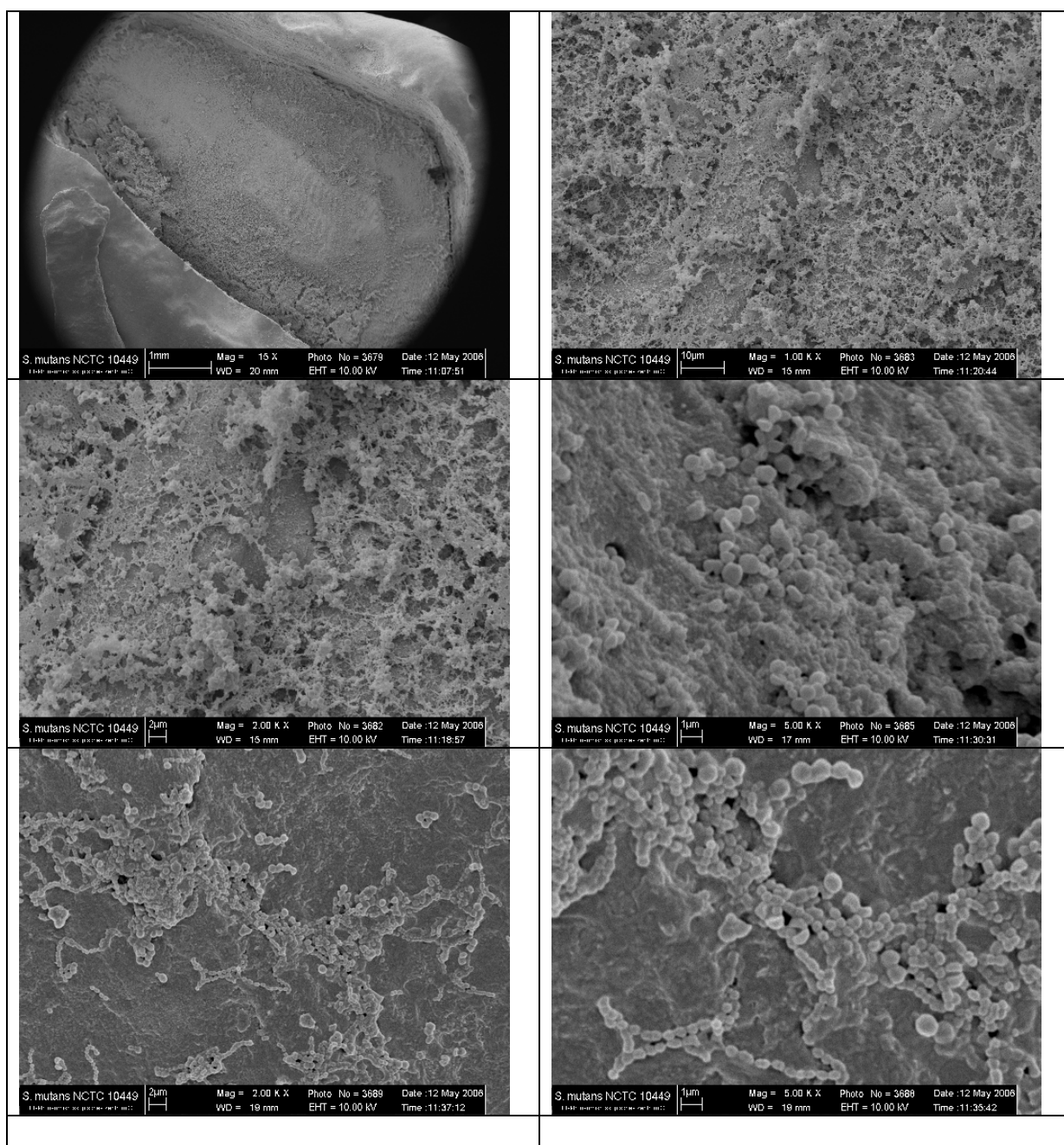
L. plantarum



A. denticola



A. naeslundii



S. mutans

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Durch Ozon in der Atemluft hervorgerufene Beschwerden bei körperlicher Anstrengung

Tabelle 2: In die Untersuchung einbezogene Bakterienstämme

Tabelle 3: Graduierung von Retentionsmuster und okklusaler Morphologie

Tabelle 4: Anzahl der mit und ohne HealOzone™ bzw. nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und PZR/HealOzone™ behandelten Molaren (n = 120)

Tabelle 5: Anzahl der mit HealOzone™ zu behandelnden Molaren bei unterschiedlicher Behandlungszeit

Tabellenverzeichnis, Anhang

Tabelle 1: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalflächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 30 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung

Tabelle 2: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalflächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 60 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung

Tabelle 3: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalflächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 90 Sekunden Placebo-, HealOzone™- und PZR-HealOzone™-Behandlung

Tabelle 4: Keimzahlen von Mutans-Streptokokken und *Streptococcus sanguinis* vor und nach HealOzone™-Behandlung von 20 Sekunden in vitro

Tabelle 5: Keimzahlen von Mutans-Streptokokken und *Streptococcus sanguinis* vor und nach HealOzone™-Behandlung von 40 Sekunden in vitro

Tabelle 6: Keimzahlen von Laktobazillen vor und nach HealOzone™-Behandlung von 20 Sekunden in vitro

Tabelle 7: Keimzahlen von Laktobazillen vor und nach HealOzone™-Behandlung von 40 Sekunden in vitro

Tabelle 8: Keimzahlen von Aktinomyzeten vor und nach HealOzone™-Behandlung von 20 Sekunden in vitro

Tabelle 9: Keimzahlen von Aktinomyzeten vor und nach HealOzone™-Behandlung von 40 Sekunden in vitro

Tabelle 10: Keimzahlen von *S. mutans* NCTC 10449 auf 12 Okklusalflächen vor und nach professioneller Zahnreinigung (PZR) und nach 90 Sekunden HealOzone™-Behandlung und mit und ohne abschließendem Spülvorgang